

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1918-1919. — N° 31

ALBUMINURIE SIMULÉE

ET

RECHERCHE DE L'OVALBUMINE DANS L'URINE

(Procédés chimiques et réaction spécifique des précipitines)

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 26 Mai 1919

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

A.-Charles HOLLANDE

Né le 29 Janvier 1881, à Chambéry (Savoie).

Docteur ès-sciences naturelles,

Docteur-pharmacien supérieur

Chargé de Cours à l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Nancy.

NANCY

A. CRÉPIN-LEBLOND, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

21, RUE SAINT-DIZIER, RUE DES DOMINICAINS, 40

1919

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON .

Année scolaire 1918-1919. — N° 31

ALBUMINURIE SIMULÉE

ET

RECHERCHE DE L'OVALBUMINE DANS L'URINE

(Procédés chimiques et réaction spécifique des précipitines)

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 26 Mai 1919

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

A.-Charles HOLLANDE

Né le 29 Janvier 1881, à Chambéry (Savoie).

Docteur ès-sciences naturelles,

Docteur-pharmacien supérieur

Chargé de Cours à l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Nancy.

NANCY

A. CREPIN-LEBLOND, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

21, RUE SAINT-DIZIER, RUE DES DOMINICAINS, 40

1919



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. HUGOUNENQ..... DOYEN.
ROQUE..... ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, SOULIER, CAZENEUVE, LÉPINE, PIERRET, BEAUVISAGE, LACASSAGNE.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....	{	MM. TEISSIER.
Cliniques chirurgicales.....		ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.....		BARD.
Clinique ophtalmologique.....		TIXIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....		BERARD.
Clinique des maladies nerveuses et mentales.....		FABRE.
Clinique des maladies des enfants.....		ROLLET.
Clinique des maladies des femmes.....		NICOLAS.
Physique biologique, Radiologie et physiothérapie.....		LEPINE (J.).
Chimie biologique.....		WEILL.
Chimie organique et Toxicologie.....		POLLOSSON (A.).
Matière médicale et Botanique.....		CLUZET.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....		HUGOUNENQ.
Anatomie.....		MOREAU.
Anatomie générale et Histologie.....		GUIART.
Physiologie.....		TESTUT.
Pathologie interne.....		X...
Pathologie et Thérapeutiques générales.....		DOYON.
Anatomie pathologique.....		COLLET.
Médecine opératoire.....		X...
Médecine expérimentale et comparée.....		PAVIOT.
Médecine légale.....		POLLOSSON (M.).
Hygiène.....		COURMONT (P.).
Thérapeutique.....		ETIENNE MARTIN.
Pharmacologie.....		X...
		PIC.
		FLORENCE.

PROFESSEURS ADJOINTS

Maladies des oreilles, du nez et du larynx.....	MM. LANNOIS.
Pathologie externe.....	VALLAS.
Maladies des voies urinaires.....	ROCHET.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Chimie minérale.....	MM. BARRAL.	agrégé.
Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN,	—
Chirurgie infantile.....	NOVE-JOSSERAND,	—
Accouchements.....	COMMANDEUR,	—
Embryologie.....	LATARJET,	—
Anatomie topographique.....	PATEL,	—
Botanique.....	BRETIN,	—
Chirurgie expérimentale.....	VILLARD,	—
Clinique infantile.....	MOURIQUAND,	—
Déontologie et médecine professionnelle.....	X...	—

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
BARRAL.	BRETIN.	ARLOING (F.).	THEVENOT (Lucien).
COMMANDEUR.	LERICHE.	GUILLEMARD.	PIERY.
NEVEU-LEMAIRE.	THEVENOT (Léon).	POLICARD.	COTTE.
LAROYENNE.	TAVERNIER.	GARIN.	DUROUX.
VORON.	CADE.	SAVY.	BONNAMOUR, charge
NOGIER.	MOURIQUAND.	FROMENT.	des fonctions
LATARJET.			SARVONAT, id.

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. COURMONT, Président; BARRAL, Assesseur; CADE et MOURIQUAND, Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'en entend leur donner ni approbation ni improbation.

SOMMAIRE

HISTORIQUE.....	5
-----------------	---

PREMIÈRE PARTIE

LA RECHERCHE DE L'OVALBUMINE DANS L'URINE DES SIMULATEURS

CHAPITRE PREMIER. — Indices de probabilité.....	12
CHAPITRE II. — Procédés chimiques.....	18
CHAPITRE III. — De la valeur des réactions chimiques pour la différenciation de l'ovalbumine de la séro-albumine dans l'urine de l'homme.....	30

DEUXIÈME PARTIE

LE SÉRUM ANTIOVALBUMINE

CHAPITRE PREMIER. — 1° Préparation	44
2° Examen du sérum.....	46
3° Titrage des précipitines.....	47
4° Mise en ampoule.....	50
5° Mode d'apparition des précipitines dans le sérum.....	51
6° Emploi du sérum.....	56
CHAPITRE II. — La réaction des précipitines spécifiques sur l'urine dans l'albuminurie provoquée par ingestion et lavement d'épreuve de blancs d'œuf.....	59
CHAPITRE III. — De la valeur du sérum anti-ovalbumine comme réaction spécifique de l'ovalbumine dans l'urine.....	69
CHAPITRE IV. — Observations sur quelques cas de simulation d'albuminurie.....	80
CHAPITRE V. — Recherche de l'ovalbumine dans l'urine ; mode opératoire.....	101
CONCLUSIONS.....	108
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	110



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553213_0016

HISTORIQUE

Appelé durant l'année 1915 (1) à effectuer, à Chambéry, l'analyse des urines des hommes présentés devant les commissions de réforme, nous avons remarqué, à plusieurs reprises, que quelques urines, soumises à notre examen, renfermaient une dose massive d'albumine qui donnait, à l'ébullition, après addition de quelques gouttes d'acide acétique au dixième, un précipité cailleboteux d'aspect assez particulier. Ce précipité très dense, à l'inverse de celui obtenu dans les mêmes conditions avec la majorité des urines albumineuses, tombait rapidement au fond du tube à essai dans lequel était contenue l'urine examinée.

En même temps, nous constatons que cette albumine existait dans de telles urines en l'absence totale

(1) Nous nous faisons un devoir de remercier ici, M. le Médecin Principal DORNIER, de la confiance dont il nous a gratifié, bien que nous soyons simple infirmier, en nous demandant d'effectuer personnellement la recherche des albuminuries simulées dont les résultats devaient être fournis aux commissions de réforme, et en nous autorisant à transmettre en notre nom à l'autorité militaire les rapports dont il nous avait chargé.

des éléments pathologiques qui caractérisent microscopiquement les lésions rénales (tubuli hyalins, granuleux ou épithéliaux, pus et hématies). De plus, les urines renfermant cette sorte d'albumine étaient en général troubles et présentaient à l'examen microscopique du culot de centrifugation de fins filaments, rappelant plus ou moins, par leur forme, les cylindroïdes. Fréquemment de nombreuses bactéries mobiles entouraient ces cylindroïdes ; parfois même, on pouvait y reconnaître la présence de filaments mycéliens ou d'appareils fructifères de moisissures communes (*Penicilium*, *Sterigmatocystis*, etc.).

La présence de ces éléments microbiens dans des urines venant d'être émises au laboratoire dans des verres soigneusement lavés et séchés, nous fit penser à l'introduction possible dans l'urine d'une substance albuminoïde fermentée et versée sans doute par le malade dans le verre au moment de la miction.

De toutes les substances albuminoïdes, le blanc d'œuf étant la plus commune et la plus facile à se procurer, nos efforts ont tenté de mettre en évidence et de façon certaine, cette substance albuminoïde dans l'urine examinée.

Nous n'avons trouvé sur l'ovalbumine (1), au point de vue bibliographique — dans les ouvrages et les revues qu'il nous a été possible de consulter à ce moment — que quelques renseignements, importants

(1) Quelques cas de simulation d'albuminurie par l'ovalbumine ont été déjà signalés par HADDA, IGEL, WEGNER et VAN LEERSUM, in *Berliner Klin. Wschr.*, EPEE. La simulation était mise en évidence par l'observation étroite des malades ; cité in *Arch. Méd. et Pharm. militaires*, LX, n° 11, p. 489, 1912.

d'ailleurs, dans l'ouvrage de *Chimie Biologique* de M. le Professeur BARRAL. Un réactif précieux, le réactif de MAUREL, étudié par GAUTHIER, nous y était signalé comme permettant de différencier l'ovalbumine de la séro-albumine de l'homme.

En expérimentant avec ce réactif, nous nous sommes rendu compte que s'il ne précipitait par la séro-albumine fraîche de l'homme, alors qu'il donnait un abondant précipité avec l'ovalbumine de poule, il n'en était pas de même si l'on opérait sur le sérum humain fermenté. Il se pouvait donc que le réactif de MAUREL puisse fournir avec certaines urines pathologiques un précipité, au cas où ces urines renfermeraient des produits de dédoublement des albumines du sérum ; c'est ce que la pratique du réactif de MAUREL nous confirma.

Dès lors, nous n'avons plus considéré le réactif de MAUREL que comme un indicateur de l'ovalbumine dans l'urine et non comme un réactif précipitant et spécifique de cette substance albuminoïde.

Ayant essayé d'appliquer les autres réactions connues de l'ovalbumine à la recherche de ce produit dans l'urine, nous avons reconnu que ces réactions étaient pour la plupart modifiées par l'urine, et qu'aucune des réactions données ne pouvait s'appliquer avec la sûreté nécessaire à une expertise médico-légale.

Devant ces insuccès, nous avons jugé inutile de continuer nos recherches pour obtenir un réactif chimique réellement spécifique de l'ovalbumine, et nous avons pensé devoir essayer, en lieu et place, les

réactions biologiques qui, en bactériologie, permettent de différencier les unes des autres, avec toutes les garanties scientifiques désirables, les substances albuminoïdes des corps bactériens.

La méthode de fixation du complément, la détermination du choc anaphylactique ne nous parurent pas assurer de garanties suffisantes, du fait de la présence de l'urine, produit éminemment variable dans sa constitution et de toxicité parfois très grande.

La réaction des précipitines nous a permis, au contraire, d'obtenir de bons résultats, à la condition toutefois de veiller à ce que certaines données, établies par l'expérience, soient observées.

Après avoir expérimenté sur un grand nombre d'urines, et avoir éliminé toutes les causes d'erreur possibles, nous avons indiqué notre méthode de recherche de l'ovalbumine dans l'urine à l'autorité militaire qui nous a confié la préparation et l'envoi des ampoules de sérum de lapin anti-ovalbumine dans les laboratoires régionaux et de l'armée.

Nous avons été heureux de pouvoir ainsi contribuer à enrayer ce genre de simulation.

Durant les hostilités de 1916 à novembre 1918, les ampoules de ce sérum furent préparées au laboratoire militaire régional de bactériologie que nous avons créé et dont nous avons été désigné comme chef par M. le Professeur Jules COURMONT.

Rappelé à Nancy en novembre 1917 pour reprendre notre enseignement, le service de la préparation du sérum antiovalbumine fut confié à M. le Docteur J. GATÉ, notre collaborateur, qui a bien voulu conti-

nuer à en assurer le fonctionnement. 2,700 ampoules de sérum ont pu ainsi être expédiées par le Laboratoire de Chambéry aux divers Laboratoires régionaux et d'armée.

.

Dans différentes publications parues de 1915 à 1919, et dont la première date du mois d'octobre 1915, nous avons mis en évidence les divers caractères des urines renfermant de l'ovalbumine ; nous avons signalé quels étaient les aspects macroscopiques de ces urines et les éléments microscopiques qu'elles contenaient et qui constituent de véritables indices de probabilité.

Nous avons étudié en détail le mode de préparation et de conservation du sérum antiovalbumine ; nous avons recherché quelle devait être sa richesse en précipitines et indiqué une technique spéciale permettant d'avoir un sérum de titre constant.

Au point de vue physiologique, nous n'avons pas négligé de considérer les albuminuries provoquées par ingestion de blancs d'œuf ou par lavement d'épreuve, nous efforçant, en ces cas, de reconnaître si les substances albuminoïdes éliminées par le rein malade renfermaient de l'ovalbumine.

Ce sont les résultats de ces diverses recherches que nous nous sommes proposé de réunir dans ce mémoire. Nous avons, à dessein, reproduit parfois des passages entiers de nos publications antérieures, de même que quelques observations ou critiques des auteurs afin de pouvoir permettre au lecteur de trouver réuni en un même travail tout ce qui a été publié

jusqu'à ce jour — à notre connaissance du moins — sur les procédés et méthodes permettant la recherche de l'ovalbumine dans l'urine.

Depuis nos premières notes, plusieurs auteurs ont publié divers procédés de recherche de l'ovalbumine dans l'urine. Ce furent tantôt de nouvelles méthodes chimiques, comme celles de PELTRISOT (1917) et de Paul GODFRIN (1916-1918), tantôt de simples modifications apportées aux réactifs déjà connus et en particulier au réactif de MAUREL [BARBE (1918), FRÉDOUX et LAPORTE (1917), Ed.-Justin MUELLER (1918)] ; d'autres auteurs signalèrent les résultats qu'ils avaient obtenus avec tel ou tel procédé en présence d'urines spéciales GAILLARD (1916), LANG (1916), mettant ainsi en garde le chimiste non prévenu contre des erreurs possibles. Enfin des observations importantes de simulation ont été enregistrées par SERR, BIRON et BRETTE (1917), BARBE (1918), etc.

Au cours des divers chapitres de ce mémoire, nous analyserons ces travaux et nous nous efforcerons de montrer les résultats qu'il est maintenant possible d'obtenir avec les réactifs considérés.

*
**

Nous avons divisé le présent mémoire en une série de chapitres où nous étudions les caractères macroscopiques et microscopiques (Indices de probabilité) de l'urine, les réactifs chimiques de l'ovalbumine et la réaction spécifique des précipitines par un sérum antiovalbumine ; à la fin de notre travail, nous avons réuni quelques observations d'albuminurie simulée.

Nous y indiquons aussi le mode opératoire que l'on devra suivre actuellement pour la mise en évidence de l'ovalbumine de poule dans l'urine des simulateurs. Les résultats fournis par deux méthodes différentes constituent en réalité l'histoire de la recherche de l'ovalbumine dans l'urine ; avec l'une, les auteurs cherchent à résoudre la question au moyen des réactifs chimiques, avec l'autre, la nôtre, la mise en évidence de l'ovalbumine se fait par la réaction biochimique des précipitines.

**

Elève de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, où déjà nous avons fait nos études de pharmacie, il nous est agréable, en ce jour, de venir soumettre devant le jury de ses éminents Professeurs, le présent travail que nous présentons actuellement comme thèse de doctorat en médecine.

Nous sommes heureux que M. le Professeur P. COURMONT ait bien voulu nous faire l'honneur d'accepter d'être notre Président de thèse. Qu'il nous soit permis également d'exprimer nos remerciements à MM. les Professeurs agrégés BARRAL, CADE et MOURIQUAND qui ont accepté d'être assesseur et membres de notre jury.

PREMIÈRE PARTIE

La recherche de l'ovalbumine dans l'urine des simulateurs

CHAPITRE PREMIER

Indices de probabilité.

Dans une urine additionnée d'ovalbumine, on peut reconnaître la présence de cette substance albuminoïde à différents indices macroscopiques et microscopiques.

a) *Indices macroscopiques.* — L'urine est trouble à l'émission, surtout lorsque l'ovalbumine a été introduite dans la vessie par injection uréthrale.

On remarque la présence de nombreux *filaments*

pouvant rester en suspension dans l'urine quelques minutes après la miction.

Agitée au contact de l'air avec un agitateur de verre, le trouble augmente de même que le nombre des filaments. Il se forme assez facilement une écume à la surface de l'urine et cette *écume* persiste longtemps.

Lorsque la quantité de blanc d'œuf a été introduite en abondance dans l'urine, on constate que celle-ci, au repos, se divise en deux zones : l'une dense, située à la partie inférieure du récipient est formée principalement d'une substance sirupeuse contenant des *masses globoïdes*, transparentes et de dimensions variables ; l'autre, moins dense, située à la partie supérieure, est constituée à peu près uniquement par de l'urine trouble. Entre ces deux zones, on observe quelques filaments blanchâtres, flexueux, plus ou moins longs.

Les masses globoïdes, plus denses que l'urine, sont nettement visibles quand on les examine au jour fri-sant ; lentement déplacées au moyen d'un agitateur de verre, elles laissent apercevoir de fines stries incolores de dissolution, semblables à celles que l'on obtiendrait en dissolvant lentement de la glycérine versée au fond d'une urine. Jetées dans l'eau bouillante, ces masses se coagulent spontanément par la chaleur ; triturées entre les doigts, elles ont alors l'odeur « *sui generis* » très nette du blanc d'œuf coagulé.

Lorsque l'ovalbumine est en petite quantité dans l'urine, il ne se dépose aucune substance globoïde au fond du vase, et l'urine ne se sépare pas en deux zones distinctes.

L'introduction du blanc d'œuf dans la vessie, — faite non aseptiquement par le simulateur — peut déterminer une *réaction de l'épithélium vésical*, qui se traduit dans les émissions postérieures par une desquamation de cellules épithéliales accompagnées de leucocytes polynucléaires. L'urine devient alors très louche et laisse déposer au bout d'une demi-heure un épais précipité de mucus. Ces réactions catarrhales disparaissent généralement assez rapidement. L'urine peut renfermer de l'ovalbumine pendant plusieurs émissions successives, voire même plusieurs jours de suite, si le blanc d'œuf a été introduit de façon massive dans la vessie.

Une urine qui renferme une grande quantité d'ovalbumine devient *visqueuse* ; ces urines « sont beaucoup moins fluides que les urines pathologiques ; leur *filtration est excessivement lente*. Si l'on imprime un léger mouvement au récipient qui les contient, elles paraissent se mouvoir tout d'une pièce. » FRÉDOUX et LAPORTE (1917).

b) *Indices microscopiques*. — Chez un sujet non malade, l'examen microscopique du produit de la centrifugation d'une urine additionnée d'ovalbumine, ne montre jamais (1) d'éléments histologiques d'origine rénale (tubuli et cellules du bassinet), indices d'une néphrite ; toutefois, il nous a été possible de reconnaître des simulateurs qui, atteints de néphrite chronique, additionnaient leur urine d'ovalbumine

(1) Si, après introduction de l'ovalbumine dans la vessie, il y a réaction catarrhale, on trouvera naturellement des cellules épithéliales de la vessie, des leucocytes et même quelques hématies,

pour en augmenter la teneur en albumine, dans la crainte de ne pas être reconnus malades à la suite d'un examen trop rapide et incomplet.

Dans l'urine renfermant de l'ovalbumine, les filaments que l'on observe macroscopiquement, se retrouvent dans le culot de la centrifugation. Les plus gros se montrent comme de *gros placards* se colorant fortement par l'eau iodée, l'éosine ou le rouge congo ; ils ne renferment aucun élément cellulaire, ni noyau de cellules ; l'on n'y voit pas de cloisonnements. On y décèle assez facilement de petites stries longitudinales, plus ou moins fines, non orientées parallèlement entre elles, mais se dirigeant dans tous les sens et pouvant se croiser réciproquement. Les *filaments plus fins* rappellent par leur forme des cylindroïdes ou des cylindres hyalins mal limités à leurs deux extrémités, et ne renfermant pas de leucocytes ; leurs bords parallèles sont de plus généralement moins réguliers que dans les véritables cylindres hyalins ou cylindroïdes. Ces éléments sont bien mis en évidence après addition au culot de centrifugation d'une goutte d'eau iodée ou de solution aqueuse à 1 p. 100 d'éosine ou de rouge congo.

Ces derniers filaments ne paraissent pas manquer dans l'urine contenant de l'ovalbumine. Ils proviennent, de même que les gros placards ci-dessus mentionnés, de la précipitation d'une partie des substances albuminoïdes (globulines en particulier) du blanc d'œuf, soit au contact de l'eau ordinaire qui a servi à diluer l'ovalbumine, soit au contact de l'urine.

A côté de ces filaments, on constate assez fréquem-

ment dans le culot de centrifugation, la présence de *petits cristaux*, de nature inconnue, ressemblant à des cristaux d'acides gras ; ils sont formés de trois à quatre branches flexueuses, courtes, formant comme autant de petites étoiles à l'ultramicroscope.

Les faux cylindroïdes sont très fréquemment remplis de *bactéries* généralement mobiles (*Bacillus subtilis*) qu'il est possible de distinguer aisément, entre lame et lamelle, à l'examen microscopique (immersion) ; on rencontre également souvent des moisissures diverses, reconnaissables à leurs filaments cloisonnés ou non. Ces éléments microbiens proviennent de la fermentation de la solution aqueuse d'ovalbumine contenue dans la fiole ou le récipient que le sujet porte généralement constamment sur lui. Le milieu se trouvant ainsi à une température constante de 25 à 30°, on comprend que la fermentation y soit rapide et que l'on puisse rencontrer à l'examen microscopique une flore microbienne variée.

Le culot de centrifugation de l'urine additionné d'une petite goutte d'une solution aqueuse à 0 gr. 50 p. 100 de bleu de méthylène et porté une demi-minute à l'ébullition permet de voir très nettement au microscope ces microbes colorés dans les filaments de l'urine albumineuse.

Nous attirons l'attention sur la présence des éléments microbiens dans les filaments qui viennent d'être décrits, parce qu'ils manquent rarement à l'examen (la fermentation étant très rapide dans l'eau ovalbumineuse additionnée à l'urine à une température de 25-30°) et parce qu'ils constituent un

indice très net et important de l'introduction d'une substance albuminoïde étrangère quelconque dans l'urine fraîche. Il est bien entendu que la mise en évidence de ces éléments microbiens ne peut avoir une valeur que si l'examen de l'urine est fait de suite après l'émission et à la condition expresse que l'urine soit recueillie et transvasée dans des récipients bien lavés, secs, et au besoin stérilisés. Jusqu'à ce jour, bien que nous ayons signalé la présence de ces microbes dans les filaments depuis longtemps (1) (HOLLANDE, 1916), aucun des auteurs qui se soient occupés des simulations d'albuminurie, n'ont effectué cet examen.

(1) A.-Ch. HOLLANDE. — Recherche rapide de l'albumine d'œuf dans l'urine. Mode opératoire. In *Union pharmaceutique*, 15 décembre 1916.

CHAPITRE II

Procédés chimiques.

L'urine additionnée de blanc d'œuf conserve une réaction acide si l'eau albumineuse qui y est introduite n'a pas subi une fermentation très avancée ; cas qui paraît du reste devoir être exceptionnel, le simulateur renouvelant généralement sa réserve d'eau albumineuse lorsque celle-ci est trop ancienne.

Lorsque l'urine renferme de l'ovalbumine, on obtient par la chaleur, après addition de quelques gouttes d'acide acétique au dixième, un précipité ayant un aspect assez particulier ; il est cailleboteux, formé de grumeaux plus ou moins filamenteux, cotonneux, denses et tombant assez rapidement au fond du tube à essai. Cet aspect ne se montre toutefois bien qu'avec une urine assez riche en ovalbumine.

La présence de l'urine, par les sels et substances diverses qu'elle contient, modifie parfois les réactions de l'ovalbumine. Aussi n'avons-nous indiqué au cours

de nos recherches que les réactions qui nous ont paru avoir quelques valeur pour différencier l'ovalbumine de poule de l'albumine pathologique de l'homme.

Toutes les réactions chimiques que nous avons indiquées antérieurement et que nous mentionnerons ici, n'ont qu'un caractère différentiel de l'ovalbumine de poule par rapport à l'albumine vraie rencontrée dans l'urine de l'homme ; *elles ne peuvent en aucun cas prétendre avoir une valeur spécifique quelconque vis-à-vis de ces substances albuminoïdes.*

« A une urine renfermant de l'ovalbumine, l'addition d'éther fait naître un léger disque blanchâtre à la limite de séparation des deux liquides ; en agitant faiblement le mélange, les bulles formées à la surface de l'urine montrent sur leurs bords un coagulum très net. Cette réaction, employée la première fois par JACQUEMET et LABATUT, sert à décèler les albumoses dans l'urine pathologique, mais elle permet encore de faire soupçonner la présence de l'ovalbumine dans l'urine si cette dernière ne renferme pas d'albumoses ; l'éther dans ces conditions ne donnant aucun précipité avec la séroalbumine (1). »

PAGEL (1918) signale une réaction voisine. « Agiter l'urine, dit cet auteur, avec un égal volume d'un mélange d'éther et d'alcool (4 vol. d'éther et 1 vol. d'alcool à 95°). Avec l'urine renfermant de l'albumine pathologique, le liquide reste limpide, tout au plus se forme-t-il à la zone de séparation des deux liquides, hydroalcoolique et éthéré, une légère pellicule.

(1) HOLLANDE, LEPEYTRE et GATÉ. — *J. Pharmacie et Chimie*, 1916.

« Avec une urine contenant de l'ovalbumine, il se produit un magma épais rempli de bulles de gaz, d'où l'éther ne se sépare que lentement ; après séparation, il reste, entre l'urine alcoolique et l'éther, une couche intermédiaire opaque et le liquide inférieur lui-même paraît trouble.

« En abandonnant le tube au repos jusqu'au lendemain, on remarque qu'il s'est produit un dépôt au fond du récipient. » Cette réaction présente les mêmes inconvénients que celle que nous avons indiquée en 1916. Elle n'a rien de spécifique vis-à-vis de l'ovalbumine et peut également fournir un résultat positif avec les albumoses de l'urine. De même que celle de JACQUEMET et LABATUT, elle ne permet pas d'ailleurs de traduire facilement les résultats obtenus.

PAGEL (1918) décrit encore un autre procédé permettant, selon lui, la différenciation de l'ovalbumine et de l'albumine pathologique. Ce procédé est basé sur l'action précipitante et coagulante de l'alcool éthylique vis-à-vis de l'ovalbumine, et la redissolution du précipité dans l'eau distillée, lorsque celui-ci est formé d'ovalbumine. Voici ce procédé :

« Précipiter les albuminoïdes de l'urine par l'alcool à 95° (10 cme. d'urine, 100 cme. d'alcool). Après une demi-heure, filtrer. Après filtration des dernières gouttes de liquide, percer le filtre et, avec un jet de pissette garnie d'eau distillée, faire tomber le précipité dans un tube à essai. L'albumine pathologique se dissout totalement, si l'on ajoute encore quelques centimètres cubes d'eau distillée et on obtient une solution limpide ; par contre, l'ovalbu-

mine demeure insoluble ou ne se dissout qu'en minime proportion, le liquide demeurant trouble.

« Cette dernière réaction n'est réellement nette que lorsque la dose d'albumine atteint au moins 2 grammes par litre. » *Loc. cit.*, p. 118.

Comme le dit l'auteur, ce procédé ne peut donner un résultat net, — nous dirons « approximatif, » — que si l'ovalbumine est en quantité notable. Un mélange d'ovalbumine et d'albumine pathologique dans l'urine ne fournirait aucune donnée possible.

En 1915 (1), nous avons indiqué deux réactifs chimiques permettant d'obtenir un précipité au contact de l'ovalbumine dans l'urine. Il s'agissait : 1° d'un mélange formé de parties égales de la solution de formaldéhyde du commerce et d'acide acétique ; 2° du réactif de MAUREL (solution cupro-acéto-acétique), employé par GAUTHIER pour différencier l'ovalbumine de la séro-albumine. Ces deux réactifs que nous avons *signalés uniquement comme réactifs indicateurs* de l'ovalbumine dans l'urine, ont fait le sujet de nombreuses recherches ; leur étude systématique a permis aux auteurs de constater que c'est l'acide acétique qui joue le rôle le plus important dans la composition de ces réactifs pour la différenciation de l'ovalbumine, de l'albumine pathologique.

Nous tenons toutefois à bien spécifier à nouveau ici que le mélange acéto-formol et le réactif de MAUREL

(1) HOLLANDE et GATÉ, — *C. R. Soc. Biologie*, 9 octobre 1915. — HOLLANDE, LEPEYTRE et GATÉ, 17 décembre 1915, *J. Ph. et Chimie*.

ne doivent et ne peuvent en aucune façon être considérés comme spécifiques de l'ovalbumine (1).

La formule du réactif de MAUREL est la suivante :

Soude caustique à 33 p. 100 en solution aqueuse.	25	cmc.
Sulfate de cuivre à 3 p. 100 en solution aqueuse.	5	»
Acide acétique cristallisable.....	70	»

L'emploi de ce réactif nécessite quelques précautions. On mesure environ 5 centimètres cubes d'urine fraîche suspecte et, à la partie inférieure du liquide, on fait pénétrer 5 centimètres cubes de réactif au moyen d'une pipette. L'urine renfermant de l'ovalbumine donne lieu, assez rapidement, à la formation d'un précipité à la séparation des liquides ; on obtient parfois avec certaines urines pathologiques riches en substances albuminoïdes diverses (albumoses, sang, pus), un précipité ; en diluant de moitié ou au quart, avec l'eau physiologique à 9 p. 1000 de telles urines, on peut en général éviter ce précipité, lorsque l'urine ne renferme pas d'ovalbumine.

Ed.-Justin MUELLER (1918) modifie la formule de MAUREL en enrichissant le milieu en sulfate de cuivre. Pour cet auteur, la présence des sels de cuivre augmente considérablement l'action précipitante de l'acide acétique. La formule à employer serait la suivante :

Soude caustique à 33 p. 100.....	25	cmc.
Sulfate de cuivre à 10 p. 100.....	5	»
Acide acétique	70	»

(1) Cf. HOLLANDE. — La recherche de l'ovalbumine dans l'urine et la méthode spécifique des précipitines. In *Journ. Pharmacie et Chimie*, 1^{re} février 1917.

Pour FRÉDOUX et LAPORTE (1917), on peut supprimer dans le réactif de Maurel le sulfate de cuivre et établir la formule ci-jointe :

Acétate de sodium cristallisé.....	38 gr.
Acide acétique cristallisable	57 gr.
Eau distillée q. s. pour.....	100 cme.

D'après P. GODFRIN (1918), « une urine contenant 1 gramme environ d'ovalbumine par litre, additionnée d'acide acétique dans la proportion de 10 gouttes pour 20 centimètres cubes et filtrée, ne donne rien au contact d'une solution saturée d'acétate de sodium acidulée dans la même proportion. » *Loc. cit.*, p. 393. Il nous semble donc qu'il n'y ait pas lieu de tenir compte des modifications apportées par FRÉDOUX et LAPORTE au réactif de Maurel.

BARBE (1918) modifie le réactif de Maurel en remplaçant l'hydrate cuprique en milieu sodique par une solution cupro-ammoniacale ; la formule du réactif devient :

Solution cupro-ammoniacale	30 cme.
Acide acétique cristallisable q. s.....	100 »

L'auteur prépare la solution cupro-ammoniacale de la façon suivante : « Placer dans la douille d'un entonnoir en verre 1 gramme environ de tournure de cuivre sur laquelle on fait tomber, goutte à goutte, de la solution officinale d'ammoniaque en quantité suffisante pour obtenir 100 centimètres cubes de liquide. Repasser plusieurs fois ce liquide qui devra finalement posséder la teinte bleu foncé de la liqueur de

Fehling, et qui constitue alors une solution ammoniacale de l'oxyde cupro-ammonique $\text{Cu } 0, 4 \text{ Az H}^3$ ».

« Le réactif que j'utilise, dit BARBE, est suffisamment sensible pour déceler 0 gr. 10 d'ovalbumine et même moins par litre... On obtient, avec l'ovalbumine seulement, un anneau blanchâtre toujours très net et bien délimité que l'on ne peut pas confondre avec le trouble léger qui se produit quelquefois quand l'urine contient du pus ou de la pseudo-albumine. Cette légère cause d'erreur peut même être évitée en partie, si l'on opère sur l'urine nouvellement émise, avant que la fermentation ammoniacale ait désagrégé les leucocytes et permis aux nucléo-albumines de se dissoudre dans le liquide. »

« La présence de l'ovalbumine (dans l'urine), se traduit par la formation à la zone de séparation (du réactif et de l'urine) d'un anneau, plus ou moins opaque et plus ou moins volumineux, mais toujours très net et bien délimité. Cet anneau seul est caractéristique et se produit très rapidement avec des doses d'ovalbumine supérieures à 0 gr. 20 par litre, mais exige trois minutes quand la dose d'ovalbumine est inférieure à 0 gr. 10 par litre. En aucun cas, il ne faut tenir compte du léger louche plus ou moins diffusé dont l'origine vient d'être expliquée. » *Loc. cit.*, p. 119.

Procédé de Peltriset (1917). — Ce procédé est basé sur l'action de l'acide acétique sur l'ovalbumine. Tandis qu'en présence de l'acide acétique, l'ovalbumine contenue dans l'urine se précipite sous la forme de filaments blanchâtres, l'albumine pathologique reste soluble.

« Si l'on traite par l'acide acétique à froid, dit PELTRISOT, une solution aqueuse d'ovalbumine, on n'obtient aucun trouble, ni précipité. Mais si l'ovalbumine est en solution dans du NaCl à 2 p. 100 et cela à la dose de 1 gramme par litre, on obtient un précipité très net, formé de flocons filamenteux tout à fait caractéristiques. Ce précipité se produit également dans l'urine additionnée de la même proportion d'albumine d'œuf. La précipitation est totale si on laisse en contact pendant deux heures, 10 centimètres cubes d'urine en question avec 2 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable. Le mélange filtré au bout de ce temps ne donne plus de trouble par le réactif de Tanret.

« Dans ces conditions l'albumine pathologique n'est pas précipitée et se retrouve dans le filtrat. Mais ici se place une observation importante. L'albumine pathologique traitée par l'acide acétique à la dose de 2 centimètres cubes pour 10 centimètres cubes d'urine précipite bien par le Tanret, mais ne se trouble plus par la chaleur. Par contre, elle précipite abondamment même à froid par le NaCl à saturation ce qui permet de la caractériser dans le liquide additionné d'acide acétique. »

Pour que cette réaction conserve toute sa valeur, il faut que l'urine ne renferme pas plus de 1 gramme d'albumine par litre. Dans le cas où l'urine renfermerait une quantité supérieure d'albumine, on la ramènerait à cette dose en la diluant avec une solution de NaCl à 2 p. 100.

Il faudra donc avant de rechercher l'ovalbumine

dans l'urine « faire un dosage approximatif au tube d'Esbach, à moins que l'on ne doive, pour une autre raison, faire un dosage précis par pesée. »

En résumé, selon le procédé de PELTRISOT, pour effectuer la recherche de l'ovalbumine dans une urine renfermant moins de 1 gramme d'albumine par litre, il suffit de mesurer 10 centimètres cubes d'urine, d'y ajouter 2 centimètres cubes d'acide acétique pur. Laisser en contact deux heures. Si l'on constate la formation d'un précipité floconneux, il y a présomption d'ovalbumine. Dans le filtrat, on ne devra pas retrouver par le Tanret ou le NaCl de substance albuminoïde.

Procédé modifié de Paul Godfrin (1918). — Ce procédé est basé sur la précipitation de l'albumine pathologique en présence du NaCl en milieu acétique et de la non précipitation, dans ces conditions, de l'ovalbumine. Celle-ci se retrouve dans le filtrat où on peut la mettre en évidence par l'action de l'acide acétique, du réactif de Tanret, ou l'addition d'un excès de NaCl.

Le *modus operandi* de l'auteur est le suivant :

« Diluer l'urine avec une solution de chlorure de sodium à 2 p. 100 de manière à amener sa teneur en albumine au voisinage de 1 gramme par litre, dans le cas où un dosage approximatif de cette substance aurait préalablement indiqué un chiffre plus élevé.

A 25 centimètres cubes d'urine pure ou diluée, et filtrée, on ajoute, *en agitant*, 10 gouttes d'acide acétique cristallisable, et on porte le mélange à une température voisine de 35° (ou 37°), en utilisant, au

besoin, l'étuve ou le bain-marie. Après 5 minutes de contact, on ajoute au mélange 5 grammes de chlorure de sodium, on agite pendant plusieurs minutes et on abandonne de nouveau à la même température pendant une demi-heure. Au bout de ce temps, on filtre. Le filtrat **parfaitement** limpide, ne doit donner, avec le réactif de Tanret, aucun précipité persistant à chaud ; *il pourra tout au plus rester légèrement louche.*

« Dans le cas où l'on obtiendrait un précipité, on pourra mettre en évidence la présence de l'ovalbumine dans d'autres parties du filtrat, soit en ajoutant un grand excès d'acide acétique (procédé de Peltriset) : ce qui amènera la formation d'un précipité filamenteux caractéristique, soit encore en ajoutant un excès de chlorure de sodium cristallisé ; il se produira ainsi au bout de quelques minutes, et en agitant, une précipitation *partielle* de l'ovalbumine sous forme de légers flocons filamenteux. Toutefois, ce dernier phénomène n'est bien apparent qu'avec des doses d'ovalbumine supérieures à 0 gr. 30 par litre.

« L'albumine acéto-soluble étant entraînée, comme les albumoses primaires, en même temps que l'albumine pathologique, tout précipité obtenu dans ces conditions devra nécessairement être attribué à une albumine d'origine étrangère.

« Si l'urine est alcaline, il sera nécessaire de l'additionner préalablement d'acide acétique au dixième, jusqu'à réaction légèrement acide... Ainsi mis au point, le procédé est très exact et très sensible ; il permet de retrouver facilement dans une urine une

dose d'ovalbumine de 0 gr. 20 par litre. Il peut être appliqué aux urines additionnées d'un antiseptique en vue de leur conservation » *Loc. cit.*, p. 390, 391.

Procédés à l'alcool nitrique. — Deux procédés à l'alcool nitrique ont été mentionnés pour la recherche de l'ovalbumine dans l'urine, celui de PELTRISOT (1917) et celui de SALKOWSKI, cité par PAGEL (1918).

a) *Procédé de Peltriset.* — La formule du réactif comprend :

Acide azotique	5 cmc.
Alcool éthylique à 95°	95 »

« Une urine renfermant environ 1 gramme par litre d'ovalbumine mélangée à parties égales avec le réactif précédent, donne lieu à la formation d'un trouble abondant. » Celui-ci se résout assez vite en flocons qui se déposent au fond du tube. L'albumine pathologique ne donne à cette dose et dans les mêmes conditions qu'un liquide limpide ou un louche imperceptible. » *Loc. cit.*, p. 307.

b) *Procédé de Salkowski* (1).

« Ajouter, à froid et par gouttes, en agitant, à l'urine suspecte l'acide nitrique de $D = 1,2$ jusqu'à ce qu'il se produise un louche persistant, ou suivant la dose d'albumine, un précipité. Additionner ensuite le mélange d'un égal volume d'alcool à 95°, mélanger. L'urine contenant de l'albumine pathologique (sérine ou globuline) devient limpide, tandis que le trouble s'accroît ou passe à l'état de précipité dans celle qui contient de l'ovalbumine.

(1) SALKOWSKI. — [Cité d'après PAGEL (1918), in *Charité Annalen*, 23-4.

Si on laisse au repos le tube ou le verre à précipité ayant servi à l'expérience, l'ovalbumine se sépare, partiellement ou totalement, en flocons qui nagent dans le liquide ; au bout d'un certain temps (12 à 24 heures), il peut se produire un dégagement gazeux abondant qui projette le liquide en dehors du récipient. » *Loc. cit.*, p. 117.

**

Il existe encore d'autres réactions chimiques (1) différentielles de l'ovalbumine et de la séro-albumine. Parmi elles, se rangent la non-coagulation par la chaleur de l'ovalbumine, après addition de formol dans la teneur de 15 à 20 p. 100 (Réaction de GUÉRIN), ou bien la décomposition par le gaz carbonique seulement des ovalbuminates de plomb et non celle des séro-albuminates de plomb déterminés par l'adjonction d'extrait de Saturne au milieu albuminoïde. Ces réactions, faciles à effectuer si l'on s'adresse aux matières albuminoïdes en solution aqueuse, ne se produisent plus en présence de l'urine, — comme celle de Guérin par exemple, — ou sont notablement modifiées. En tout cas, elles ne paraissent pas devoir être appliquées aisément à la recherche et à la différenciation de l'ovalbumine dans l'urine, ainsi que nous l'avons reconnu au laboratoire en opérant sur divers mélanges formés d'albumine d'œuf et d'urines de différentes provenances. »

(1) La plupart de ces réactions deviennent possibles si l'on agit sur l'ovalbumine extraite de l'urine par le procédé au sulfate d'ammoniaque que nous indiquons à la fin de ce mémoire, la substance albuminoïde étant en solution dans le liquide physiologique.

CHAPITRE III

De la valeur des réactions chimiques pour la différenciation de l'ovalbumine de la séro-albumine dans l'urine de l'homme.

Les réactifs chimiques (acéto-formol et Maurel) que nous avons indiqués en 1915 comme pouvant être utilisés pour mettre en évidence l'ovalbumine de poule dans l'urine de l'homme, ont fait, depuis, le sujet de nombreuses recherches de la part des auteurs. *Bien que nous les ayons signalés uniquement, et à diverses reprises (1), comme réactifs indicateurs*, la plupart des auteurs ont voulu les considérer comme des réactifs spécifiques de l'ovalbumine donnant des résultats, sinon supérieurs, du moins égaux à ceux fournis par

(1) HOLLANDE, LEPEYTRE et GATÉ, 1916, in *Annales des falsifications* ; HOLLANDE, 1916, Recherche rapide de l'ovalbumine dans l'urine, in *Arch. Méd. et Ph. mil.* ; HOLLANDE, 1917, La recherche de l'ovalbumine dans l'urine et la méthode spécifique des précipitines, in *Journ. Ph. et Chimie* ; HOLLANDE, 1916, Recherche rapide de l'albumine d'œuf dans l'urine, Mode opératoire. In *Union Pharmaceutique*,

la réaction des précipitines d'un sérum antiovalbumine.

Nous avons dit et nous le maintenons encore fermement aujourd'hui que toutes les fois qu'une urine précipitera au contact du réactif acéto-formol ou de préférence au contact du réactif de Maurel — qui, par l'expérience s'est révélé plus sensible et plus fidèle que le premier — *il faudra toujours avoir recours à la réaction des précipitines — la seule qui soit spécifique, nous le répétons*, — avant d'affirmer la présence de l'ovalbumine dans l'urine examinée, Nous utilisons le réactif de Maurel uniquement pour savoir si nous devons pratiquer la recherche des précipitines sur l'urine à analyser et nous pratiquons toujours cette recherche lorsque le réactif de Maurel fournit un précipité.

Cela ne retire rien à la valeur réelle des réactifs chimiques et cela ne veut pas dire qu'il ne soit pas possible, comme l'ont fait GODFRIN et PELTRISOT, de rendre ces réactifs plus sensibles, et par cela même de pouvoir, — par leurs applications faites dans des conditions strictement établies, — obtenir des résultats très importants, permettant d'avoir de très fortes présomptions quant à la simulation de l'albuminurie. Mais qui dit présomption en faveur d'une substance albuminoïde donnée ne dit pas identification de cette substance.

PELTRISOT auquel on doit l'une des meilleures méthodes chimiques de différenciation de l'ovalbumine dans l'urine n'hésite pas lui-même à le dire.

« Il faut même, dit cet auteur (1918), avoir une cer-

taine dose de témérité pour attribuer à un réactif chimique une spécificité absolue pour une albumine déterminée dans l'état actuel, si précaire, de nos connaissances sur cette obscure question. C'est là, ou jamais, que s'impose la réserve dont on ne devrait d'ailleurs jamais se départir et dont j'ai toujours eu le souci, parfois jusqu'à l'exagération. » *Loc. cit.*, p. 154. Et plus loin, le même auteur parlant toujours des résultats fournis par les procédés chimiques, ajoute : « Il s'agit là de *recherches préliminaires, destinées à être contrôlées dans le cas où elles sont positives*, mais suffisantes pour attirer l'attention sur la supercherie possible. Comme tous les procédés chimiques de cette nature, elles sont sujettes à erreur et il faut bien se garder de leur accorder une valeur définitive. »

**

Nous passerons rapidement en vue ici la valeur des divers réactifs et procédés chimiques employés dans la recherche de l'ovalbumine dans l'urine. La plupart des auteurs ont d'ailleurs eux-mêmes signalé les causes d'erreur que l'on pouvait rencontrer en utilisant les méthodes qu'ils préconisaient.

Réactif acéto-formol. — Selon PELTRISOT, ce réactif peut fournir parfois un précipité avec une urine ne présentant pas de substances albuminoïdes. La plupart des auteurs ont reconnu, et nous-mêmes d'ailleurs, qu'il était moins sensible vis-à-vis de l'ovalbumine dans l'urine que le réactif de Maurel. Lorsque nous l'avons indiqué pour la première fois en 1915,

notre intention était simplement de mentionner un réactif facile à préparer extemporanément permettant d'obtenir un précipité avec une urine renfermant de l'ovalbumine, et cela uniquement à défaut du réactif de Maurel.

« Contrairement à ce que j'ai précédemment écrit, dit P. GODFRIN (1918), ce réactif est assez sensible ; mais, son action, de même que celle de l'acide acétique (1), ne s'exerce pas sur l'ovalbumine en solution aqueuse et elle s'exerce mal en présence d'une trop faible proportion de sels. C'est pourquoi les essais que j'avais effectués sur des urines diluées avec de l'eau ne m'avaient pas fourni de résultats satisfaisants. En somme, comme le réactif de Maurel, c'est uniquement à l'acide acétique que celui-ci doit ses propriétés. » *Loc. cit.*, p. 393.

Réactif de Maurel. — GAILLARD (1916) a signalé (2), qu'il avait obtenu un précipité avec ce réactif au contact d'une urine renfermant de fortes proportions d'albumine. Nous avions nous-mêmes antérieurement (1915), montré que ce réactif pouvait fournir un précipité avec des urines pathologiques (albumoses) en dehors de la présence d'ovalbumine.

En diluant l'urine de moitié ou du quart avec de l'eau physiologique renfermant 9 p. 1000 de NaCl, on se met en général à l'abri de la formation d'un précipité avec le réactif de Maurel lorsque l'urine ne renferme que de la séro-albumine.

(1) Dans ces conditions, la méthode de PELTRISOT à l'acide acétique pourrait être en défaut, s'il s'agissait de rechercher de l'ovalbumine dans une urine déchlorurée.

(2) GAILLARD. — *Journ. Pharm. et Chimie*, 7, XIV, p. 321, 1916.

Pour BARBE, le réactif de Maurel à base d'une solution cupro-ammoniacale préparée suivant ses indications, donnerait de meilleurs résultats que le réactif primitif.

Pour Ed.-Justin MUELLER, en augmentant la teneur en sulfate de cuivre, on accroît la « vitesse de précipitation » du réactif vis-à-vis de l'ovalbumine.

Selon PELTRISOT et P. GODFRIN, la valeur de différenciation de ce réactif est due surtout à la présence de l'acide acétique.

« Sans méconnaître les services que le procédé de Maurel a pu rendre, dit P. GODFRIN (1918), j'estime que, modifié ou non, il n'y a pas lieu de le conserver ; il ferait double emploi avec celui de M. PELTRISOT, à l'acide acétique, qui est plus rationnel, plus exact et plus sensible. » *Loc. cit.*, p. 393.

Ed.-Justin MUELLER (1918) n'utilise que le réactif de Maurel, modifié par lui, pour la recherche de l'ovalbumine dans les urines, et conclut à la présence de cette substance, lorsque l'urine renferme des filaments, donne un précipité cailleboteux en milieu acétique par la chaleur, et un précipité au contact du réactif de Maurel.

« On reproche au réactif de Maurel, dit cet auteur, d'être quelquefois positif avec des urines riches en albumine pathologique ne contenant pas d'ovalbumine. Nous ne l'avons jamais constaté, malgré de nombreux essais sur des urines albumineuses pathologiques. Mais en présence d'un coagulum important, on peut toujours, pour plus de sûreté, diluer l'urine. » *Loc. cit.*, p. 202. Et plus loin, le même auteur ajoute :

« Différentes méthodes ont été préconisées, nous les avons toutes essayées et nous nous sommes arrêtés à celle au réactif cupro-acéto-acétique (réactif de Maurel), légèrement modifié, comme donnant les résultats les plus sûrs et les plus rapides. »

Nous ne pouvons souscrire à l'opinion de Ed.-Justin MUELLER, le réactif de Maurel, même modifié avantageusement, ne pouvant fournir que des indications, précieuses sans doute, sur la présence possible de l'ovalbumine dans l'urine, mais non une certitude.

Procédé de Peltriset à l'acide acétique. — Ce procédé, à l'acide acétique, de même que celui de P. Godfrin, et la méthode à l'alcool nitrique, pour donner des résultats ayant une certaine valeur, doivent être pratiqués sur des urines ne renfermant pas plus de 1 gramme d'albumine par litre.

« En opérant, dit PELTRISOT (1917), (page 305) sur des urines très chargées en albumine pathologique, on obtient parfois un louche plus ou moins accentué avec l'acide acétique. Ce louche n'est jamais comparable à ce que donnerait la même dose d'ovalbumine. Toutefois, il est bon de retenir ce fait qu'à des doses très élevées *l'albumine pathologique fournit faiblement une réaction analogue à celle de l'ovalbumine*. Par contre, l'ovalbumine en très forte quantité peut dans le liquide filtré après contact avec l'acide acétique donner avec le Tanret ou par addition de NaCl concentré un léger trouble que l'on ne peut confondre avec ce que donnerait la même dose d'albumine pathologique. » Pour ces raisons, cet auteur ajoute : « On peut donc admettre que l'albumine pathologique

contient en faible proportion un corps se comportant comme l'ovalbumine et que cette dernière paraît contenir une très petite quantité d'une albumine analogue à l'albumine pathologique. Ces réactions secondaires qui troublent légèrement la réaction principale seront évitées par la dilution. Celle-ci amènera les produits qui en sont la cause à une teneur trop faible pour perturber d'une façon sensible les résultats. » *Loc. cit.*, p. 306.

Le procédé de PELTRISOT, à l'acide acétique à froid (2 centimètres cubes d'acide pour 10 centimètres cubes d'urine), pour la recherche de l'ovalbumine est une des meilleures méthodes chimiques qui ait été indiquée. L'aspect de « flocons filamenteux » qu'il donne avec l'ovalbumine, est tout à fait caractéristique.

D'après l'auteur de la méthode, ce procédé donne néanmoins « avec les urines purulentes plus ou moins alcalines, un trouble plus ou moins accentué dû à la précipitation des albumines de transformation (alcali-albumine) et des nucléo-albumines. » Il faudra donc éviter de faire la recherche de l'ovalbumine sur des urines fermentées. Quant aux urines pathologiquement alcalines à l'émission, — c'est-à-dire provenant de cystite ou de pyélo-néphrite, — il sera facile cliniquement de les éliminer, et la recherche de l'ovalbumine dans ces urines sera généralement inutile.

Toutefois, la présence de pus dans une urine ne permet pas « d'écarter à priori l'idée de simulation », comme le dit PELTRISOT. Il nous a été possible en effet de retrouver l'ovalbumine dans une urine trouble d'un sujet atteint de blennorrhagie. Nous avons signalé

également un cas de simulation d'albuminurie chez un malade ayant été soigné pour bacillose rénale et dont l'urine renfermait des hématies et des leucocytes.

« Avec les urines contenant du sang, même en quantité assez notable, l'acide acétique ne donne pas, selon PELTRISOT, de réaction susceptible de fausser la conclusion. »

En somme, avec une urine contenant moins d'un gramme d'albumine, ne renfermant pas de pus, ne présentant pas une réaction alcaline, et n'ayant pas subi de fermentation, l'acide acétique, employé suivant les indications de PELTRISOT, permet, lorsque l'on obtient un précipité floconneux, d'avoir de très fortes présomptions quant à la nature (ovalbumine) de la substance albuminoïde qu'elle contient. Ce réactif permettrait même de supposer qu'une telle urine puisse renfermer une substance albuminoïde étrangère pouvant être autre que l'ovalbumine de poule, par exemple de l'ovalbumine de cane (1) ; c'est là, sans contredit, une réaction intéressante, et qui doit être effectuée chaque fois que l'on aura à rechercher l'ovalbumine.

Réactif alcool nitrique de Peltriset. — *Le réactif alcool à 95° + acide nitrique 5 0/0* (réactif + urine : ââ) « donne, dit PELTRISOT (1918), aussi bien avec les urines contenant du sang qu'avec celles qui

(1) Selon P. GODFRIN, qui a préparé et étudié des urines renfermant de l'ovalbumine de cane, « les procédés chimiques, — à l'inverse du sérum antiovalbumine de poule qui se montre inactif vis-à-vis des urines à l'ovalbumine de cane — se montrent sur de telles urines très sensibles et donnent des résultats très précis ». *Loc. cit.*, 1918, note, page 394.

contiennent des albumines de transformation (urines purulentes fermentées) un louche léger, non immédiat, se résorbant en un précipité floconneux. » Comme le dit cet auteur, avec ce réactif la cause d'erreur est plus sensible qu'avec l'acide acétique, « bien que, par comparaison avec une urine contenant la même dose d'ovalbumine, la réaction soit nettement plus faible... » La réaction à l'alcool nitrique sera donc en défaut s'il existe du pus dans l'urine et surtout s'il y existe une dose de sang notable. En dehors de ces cas, l'action de l'alcool nitrique conserve toute sa valeur de réaction d'indication, lorsque l'urine fraîchement émise, diluée ou non, ne renferme pas plus d'un gramme d'albumine.

Il faut savoir gré à PELTRISOT d'avoir été le premier à montrer la valeur réelle qu'il faut attacher aux réactions chimiques qu'il a indiquées et étudiées avec la conscience du vrai scientifique. Les deux réactions qu'il indique « ont, pour employer ses propres termes, une valeur éliminatoire indiscutable. »

« Les méthodes chimiques peuvent paraître suspectes en raison de la possibilité de rencontrer, dans certains pathologiques des corps (1) présentant

(1) A ce sujet, H. PECKER dit : « Nous avons enfin caractérisé dans quelques urines ictériques des *substances albuminoïdes*, appartenant au groupe de l'ovalbumine, c'est-à-dire précipitant par le réactif de TANRET, à chaud, après saturation de l'urine par le chlorure de sodium en milieu acétique ; de telles urines donnent un léger anneau blanc par le réactif de MAUREL, employé comme indicateur pour déceler les albuminuries simulées. Sans doute peut-on les considérer comme des glucoprotéides provenant d'un mauvais fonctionnement de la cellule hépatique et dont A.-Ch. HOLLANDE avait envisagé autrefois l'existence possible. » In *Journ. Pharmacie et Chimie*, 1^{er} mai 1918, p. 297.

les caractères de l'ovalbumine... *En dernier ressort, les précipitines devront se prononcer, et la mise en observation confirmer les résultats acquis.* » *Loc. cit.*, p. 154. PELTRISOT (1918).

Procédé de Paul Godfrin. — P. GODFRIN, dans le premier procédé (1916) qu'il avait indiqué — et que nous n'avons pas relaté ici puisque l'auteur l'a modifié après avoir reconnu le bien-fondé des remarques que PELTRISOT (1918) et nous-mêmes (1) (1917) avions formulées, — traitait l'urine par une dose moindre d'acide acétique et saturait le milieu de chlorure de sodium ; l'urine ne devait pas renfermer une dose d'albumine supérieure à cinq grammes. Dans son procédé modifié (1918), l'urine doit être diluée de façon à ne pas contenir plus d'un gramme d'albumine ; l'auteur emploie 10 gouttes d'acide acétique, au lieu de 5 primitivement, pour 25 centimètres cubes d'urine (PELTRISOT en emploie 15) et nous avons vu (page 26) qu'il ajoutait ensuite, après cinq minutes de contact à 35°, 5 grammes de chlorure de sodium (au lieu de saturer le milieu par ce sel) ; après agitation et contact d'une demi-heure à 35°, on filtre.

Le filtrat ne doit pas donner de précipité persistant à chaud, avec le réactif de Tanret, lorsque l'urine ne renferme pas d'ovalbumine. Le filtrat, après l'action du Tanret à chaud, « *pourra tout au plus rester légèrement louche* », ajoute P. GODFRIN. La nature de ce louche n'est pas mentionné par l'auteur.

P. GODFRIN n'indique pas, non plus, ce qui pourtant a une grande importance pratique, comment se com-

(1) A.-Ch. HOLLANDE. — 1917, février, *Journ. Pharm. et Chimie.*

porte son procédé modifié vis-à-vis des urines renfermant du pus et du sang. Il ne fournit pas davantage d'indications précises pour les urines albumineuses fermentées. Il y aurait donc lieu, semble-t-il, de s'abstenir dans l'interprétation des résultats fournis par cette méthode, si l'on devait l'appliquer à une urine purulente ou renfermant du sang. Il est probable que ce procédé — de même que ceux indiqués par PELTRISOT — puisse dans certains cas fournir des résultats dont l'interprétation soit rendue difficile. A part ces restrictions, il constitue — avec le procédé à l'acide acétique de PELTRISOT, — un bon indicateur de l'ovalbumine dans l'urine.

*
**

Il eut été intéressant de connaître les résultats fournis par le procédé de PELTRISOT à l'acide acétique et le procédé modifié de P. GODFRIN, vis-à-vis des urines albumineuses de sujets porteurs de lésions rénales lors de l'épreuve de l'albuminurie provoquée par ingestion ou lavement de blancs d'œuf, ainsi que nous l'avons fait pour les précipitines et dont nous exposerons la technique et les données plus loin. Peut-être ces méthodes se fussent-elles trouvées en défaut en pareil cas.

DEUXIÈME PARTIE

Le sérum antiovalbumine.

CHAPITRE PREMIER

Méthode d'obtention, titrage, conservation et mode d'emploi.

Les réactifs chimiques que nous avons utilisés pour mettre en évidence la présence de l'ovalbumine dans les urines, ne s'étant pas montrés suffisamment sûrs et précis pour permettre la différenciation de l'ovalbumine par rapport aux substances albuminoïdes que l'on peut rencontrer dans les urines pathologiques (séro-albumine, albumines acido-solubles, albumoses, alcali-albumines, nucléo et glycoprotéides),

nous avons cherché à identifier l'ovalbumine par les procédés biochimiques connus. Tous ne nous ont pas fourni les résultats que nous pensions. Seule la réaction des précipitines s'est montrée réellement spécifique et facilement applicable à la recherche de l'ovalbumine de poule dans l'urine de l'homme.

Il nous fallait en effet obtenir un réactif qui puisse être utilisé dans tous les laboratoires et dont les résultats soient faciles à interpréter.

La méthode de déviation du complément de Bordet-Gengou réclamait des éléments (alexine de cobaye, globules rouges de mouton) que l'on ne pouvait avoir constamment, et au moment voulu, à la portée de la main ; sa technique, assez délicate pour des médecins ou pharmaciens non habitués aux techniques biochimiques, pouvait en outre être mal effectuée et les résultats fournis être ainsi faussés.

Nous avons également essayé de déterminer la nature de l'ovalbumine en cherchant à produire les accidents anaphylactiques chez le cobaye, après injection de l'urine suspecte. La toxicité urinaire nous a interdit l'injection de doses massives. Malheureusement, à doses relativement peu élevées (par exemple 2 centimètres cubes d'urine renfermant 0 gr. 03 d'ovalbumine), l'injection préparante n'est généralement plus suffisante, car l'injection déchaînante (2 centimètres cubes de liquide physiologique renfermant de 0 gr. 01 à 0 gr. 05 d'ovalbumine) pratiquée quinze jours après ne détermine aucun accident. Sans doute, en se plaçant dans d'autres conditions (urines plus riches en ovalbumine), pourrions-nous obtenir un

résultat positif. Mais, même en admettant qu'il nous soit possible, par l'anaphylaxie, d'obtenir rigoureusement et dans chaque cas soumis à l'expérience, un résultat positif, nous ne pourrions le considérer que comme un argument de plus en faveur de la nature de l'albumine suspectée, mais nous ne pourrions faire davantage. Car si, en théorie, la spécificité de l'ovalbumine, au point de vue anaphylactique, est étroite, et si certains auteurs, comme LESNÉ et DREYFUS, admettent que des animaux anaphylactisés à l'ovalbumine de soude ne réagissent pas à celle de cane, il en est d'autres comme ARTHUS (1), qui ont pu préparer des animaux à l'ovalbumine de poule et déchaîner le choc anaphylactique chez ces animaux avec de l'albumine humaine.

Si l'emploi d'un sérum anti-ovalbumine de poule permettait de différencier les albumines du blanc d'œuf des albumines pathologiques de l'urine de l'homme, il importait d'étudier sur un grand nombre d'échantillons d'urine humaine l'action de ce sérum et de savoir comment il se comporterait vis-à-vis d'urines plus ou moins riches en sels, la réaction des précipitines étant une réaction physico-chimique.

Il importait également d'obtenir de façon constante un sérum assez puissant pour précipiter les faibles doses d'ovalbumine rencontrées parfois dans les uri-

(1) Nous ferons remarquer que PELTRISOT (1917), par son procédé chimique à l'acide acétique conclut à la présence dans la séro-albumine de l'homme de substances albuminoïdes présentant vis-à-vis du réactif employé un caractère chimique de l'ovalbumine de poule. Il y a là un fait intéressant à rapprocher des résultats obtenus par ARTHUS.

nes de simulateurs habiles ; un titrage assez rigoureux des précipitines du sérum s'imposait donc avant de le livrer au praticien comme réactif. En dernier lieu, il fallait mettre le sérum à l'abri de toute putréfaction microbienne, et lui conserver pendant un temps assez long sa force de précipitation, autrement dit sa richesse en précipitines spécifiques.

Nous allons successivement exposer dans les paragraphes suivants, le mode d'obtention du sérum antiovalbumine, l'apparition des précipitines, leur titrage et le mode de conservation de ce sérum. Nous verrons ensuite comment l'on doit procéder à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine au moyen de ce réactif.



1° PRÉPARATION DU SÉRUM ANTIOVALBUMINE. — Nous avons choisi le lapin comme animal producteur de précipitines ; nous avons expérimenté sur le mouton sans obtenir de résultats favorables.

Les lapins choisis pour fournir le sérum doivent avoir un poids de deux kilos et demi à trois kilos. Il faut qu'ils soient vigoureux et bien portants.

Nous effectuons les injections d'ovalbumine sous la peau du dos de l'animal, vers la région lombaire, alternativement à droite et à gauche. Les injections doivent être au nombre de huit à douze, et espacées chacune d'elles de six jours. L'ovalbumine est injectée à l'état pur ; elle est prélevée, à cet effet, directement dans l'œuf dont la coquille a été rendue aseptique par un décapage préalable à la teinture d'iode. On commence par injecter un demi-centimètre cube

de blanc d'œuf, puis successivement un, un et demi, et deux centimètres cubes de blanc d'œuf ; les autres injections sont toutes pratiquées à la dose de deux centimètres cubes.

Nous avons choisi l'intervalle de six jours entre chaque injection pour éviter la mort de l'animal par anaphylaxie ; en espaçant les injections de huit à dix jours, l'anaphylaxie paraît, en effet, être fréquente après la troisième ou quatrième injection.

Les injections au lapin doivent être pratiquées avec toute l'asepsie possible ; la peau du dos de l'animal devra être rasée à la tondeuse, puis lavée à la teinture d'iode ; on ne devra utiliser pour l'injection qu'une seringue et une aiguille bouillies durant un quart d'heure.

La formation d'abcès caséeux sous-cutanés chez les lapins est très fréquente et se produit aisément. Il y a grand intérêt à éviter de tels abcès ; sitôt l'abcès formé, on devra pratiquer le plus rapidement possible son incision, vider son contenu par pression et le traiter à la teinture d'iode. Un lapin qui fait des abcès fournira, à peu près à coup sûr, un sérum très peu riche en précipitines.

Il est également à recommander de séparer autant que possible chaque lapin traité, pour éviter d'une part les morsures des animaux entre eux — d'où dérivent souvent des abcès caséeux — et la fécondation des lapines. Une lapine gravide est en général peu productrice de précipitines.

Malgré toutes les précautions minutieuses que l'on peut prendre, il arrive assez fréquemment, pour des

raisons que nous n'avons pu déterminer, que des lapins ne réagissent pas ou très peu vis-à-vis de l'ovalbumine, il est donc utile de traiter trois ou quatre lapins au moins à la fois (1). Sur dix lapins, on rencontre en général un ou deux lapins qui ne produiront pas de sérum précipitant. Certaines races de lapins paraissent même plus favorables que d'autres.

Après la sixième injection, on fait à chaque lapin traité une prise de sang à la veine marginale ou médiane de l'oreille pour l'examen du sérum. Si les résultats fournis par l'examen du sérum sont jugés insuffisants, on fera une nouvelle prise de sang après la dixième, onzième ou douzième injection jusqu'à ce que l'on obtienne des sérums remplissant les conditions demandées.

Pour effectuer la prise de sang, on laisse l'animal à jeun durant huit à dix heures ; on lave une de ses oreilles avec un morceau de coton hydrophile imbibé de xylol qui a pour but de gonfler très fortement les veines par vaso-dilatation ; on introduit alors dans la veine choisie une aiguille de seringue hypodermique à lumen assez large ; le sang qui s'écoule est recueilli dans un tube à essai stérilisé. Après coagulation et séparation du caillot, on devra procéder à l'examen et au titrage du sérum de la façon suivante :

2° EXAMEN DU SÉRUM. — Le sérum doit être limpide et non opalescent. Le sérum est, en général, opalescent lorsque l'animal est tué en pleine digestion et surtout

(1) Dans le service de la préparation du sérum antiovalbumine annexé au laboratoire de bactériologie de Chambéry, on a traité parallèlement des lots de 16 à 20 lapins,

s'il a mangé des feuilles de chou. Le sérum est soumis à l'épreuve suivante : Dans un tube à précipitines — tube de vaccin de l'armée par exemple — on verse un demi-centimètre cube d'eau physiologique (NaCl 9 grammes ; H_2O 1000 centimètres cubes) ; puis on laisse tomber sur la paroi du tube incliné quelques gouttes du sérum à examiner. Le sérum se dépose lentement à la partie inférieure du tube ; à la limite de séparation du sérum et de l'eau salée, il ne doit se former aucun précipité et aucun louche ; tout sérum qui donnerait un louche appréciable, devra être rejeté comme impropre à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine. En général, les sérums qui fournissent de tels louches sont des sérums très riches en globulines et ne possédant pas, ou à peu près pas, de précipitines.

3° TITRAGE DU SÉRUM. — Il ne suffit pas que le sérum préparé précipite en présence de blanc d'œuf ; il faut encore que sa force de précipitation soit suffisante pour déceler des traces d'ovalbumine dans l'urine.

Pour titrer les précipitines du sérum de lapin anti-ovalbumine, nous procédons à la préparation de quatre solutions A, B, C et D de richesse différente en blanc d'œuf.

a) SOLUTION A. — Cinq blancs d'œuf, en l'absence de tout jaune, sont mélangés et agités, durant quelques minutes, dans un verre à pied ; puis au moyen d'une pipette d'un centimètre cube divisé au dixième, nous prélevons exactement un centimètre cube. Ce centimètre cube de blanc d'œuf est versé dans un verre conique, et dissout dans une très petite quan-

tité d'eau physiologique à 9 grammes de chlorure de sodium pour 1000 centimètres cubes d'eau ; on complète peu à peu, et en agitant constamment, à 100 centimètres cubes avec l'eau physiologique. Cette solution (A) est considérée comme renfermant 1 p. 100 de blanc d'œuf et non 1 p. 100 d'ovalbumine.

b) SOLUTION B. — On prend 10 centimètres cubes de la solution A et on complète à 100 centimètres cubes avec de l'eau physiologique ; cette solution renferme 1 p. 1000 de blanc d'œuf.

c) SOLUTION C. — On prend une partie (soit 15 centimètres cubes) de la solution B et on l'additionne d'une égale partie (soit 15 centimètres cubes) de liquide physiologique. Cette solution renferme 0 gr. 50 de blanc d'œuf pour 1000 centimètres cubes.

d) SOLUTION D. — On prend une partie (15 centimètres cubes) de la solution C et on l'additionne d'une partie (15 centimètres cubes) de liquide physiologique, on a ainsi une solution D renfermant 0 gr. 25 de blanc d'œuf p. 1000 centimètres cubes.

Un demi-centimètre cube de chacune de ces solutions A, B, C et D est placé dans une série de quatre tubes à précipitines ; dans chaque tube, on laisse tomber le long des parois du tube maintenu incliné quelques gouttes du sérum anti-ovalbumine dont on veut titrer la richesse en précipitines spécifiques.

A la limite de séparation du sérum et des solutions à ovalbumine se forme un disque blanc constitué par le précipité résultant du contact de l'antigène et de l'anticorps ; ce précipité sera d'autant plus abondant et se formera d'autant plus vite que le sérum sera

plus riche en précipitines. Pour un bon sérum, on devra obtenir un abondant précipité dans les tubes A, B et C, en moins d'une minute ; dans le tube D, le précipité sera plus lent à se former, mais devra être très net en moins de trois minutes. Un sérum qui ne donnerait qu'un léger précipité dans le tube C et rien, ou à peu près rien, dans le tube D devra être considéré comme médiocre. Un sérum qui ne donnerait qu'un léger précipité dans le tube B et seulement un faible louche, lent à se former, dans le tube C devra être rejeté comme impropre à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine.

Nous ferons remarquer que les solutions A, B, C et D, ne renferment pas 1 p. 100, 1 p. 1000, 0 gr. 50 et 0 gr. 25 p. 1000 d'ovalbumine ; le blanc d'œuf renfermant en moyenne de 10 à 13 p. 100 seulement de matières protéiques (1), la solution A contient en réalité 0 gr. 10 à 0 gr. 13 de matières protéiques (ovalbumine et ovoglobuline surtout) p. 100 ; de même les solutions B, C et D renferment approximativement 0 gr. 10, 0 gr. 05 et 0 gr. 025 p. 1000 de substances albuminoïdes propres au blanc d'œuf ; on peut juger par cela même de la sensibilité du sérum antiovalbumine.

Lorsque les lapins en traitement auront acquis un sérum suffisamment riche en précipitines, soit par exemple après la dixième injection d'ovalbumine, on prélèvera uniquement — et aseptiquement — le sang des lapins reconnus bons ; pour cela, on introduira,

(1) Cf. p. 227. *Manipulations de chimie biologique*. G. BERTRAND et P. THOMAS, 1913.

chez chaque animal, une aiguille de Tuffier dans la carotide dénudée et comprimée à sa partie supérieure par une pince de Péan. Les sérums exsudés seront ensuite soutirés et mélangés.

4° MISE EN AMPOULES DU SÉRUM. — Les ampoules sont faites au moyen de tubes de verre de 3 millimètres de diamètre, étirés à la flamme ; elles sont fermées à une extrémité seulement ; elles sont placées verticalement dans de petits cristallisoirs, l'extrémité non fermée étant dirigée vers le fond du récipient ; le tout est stérilisé à 200° au four à flamber. Après refroidissement, le sérum est versé aseptiquement dans le cristallisoir et placé sous la cloche d'une trompe à vide. Le vide effectué, on laisse rentrer lentement l'air filtré sur coton hydrophile ; les ampoules se remplissent ; elles sont alors fermées au brûleur Bunsen *en évitant de coaguler le sérum à l'intérieur de l'ampoule*. Enfin, on tyndalise à 50° durant 4 heures, trois fois de suite à 24 heures d'intervalle. Il est important de ne pas dépasser la température de 50° centigrades.

Le sérum réparti ainsi en ampoules, se conservera six mois et même un an sans altération, avec toutes ses propriétés.

Après la dernière tyndalisation, on devra procéder à un nouveau titrage comme il a été indiqué plus haut. Ce contrôle est utile, car si, par mégarde, on laisse séjourner trop longtemps le sérum à l'étuve ou au bain-marie à 50°, ou si la température vient par mégarde à s'élever, la valeur précipitante du sérum

diminue ; en outre, dans ces conditions, il arrive parfois que le sérum puisse, par suite des modifications moléculaires des substances protéiques, donner naissance à un léger louche au contact de l'eau physiologique à 9 p. 1000. Telles sont les conditions nécessaires pour l'obtention et la conservation d'un bon sérum antiovalbumine (1).

5° APPARITION DES PRÉCIPITINES DANS LE SÉRUM DE LAPINS INJECTÉS AU BLANC D'ŒUF. — Nous avons recherché si l'apparition des précipitines dans le sérum des lapins préparés avec le blanc d'œuf se produisait comme pour les hémolysines (2).

(1) Nous avons rejeté l'emploi de l'acide phénique, du camphre ou du formol ou de tout autre antiseptique pour la conservation du sérum antiovalbumine parce que ces produits antiseptiques nous ont paru altérer ou modifier plus ou moins la réaction des précipitines. Le meilleur procédé serait de recueillir avec une asepsie rigoureuse le sérum et de le mettre en ampoules sans le tyndaliser. Malheureusement la difficulté d'obtenir au cours des manipulations nombreuses une asepsie suffisante, et en présence du grand nombre d'ampoules qui s'altéraient dans la suite, nous avons préféré faire subir au sérum recueilli aseptiquement une série de tyndalisations. Lorsque l'on a le temps nécessaire, il est même préférable de pratiquer sur le sérum recueilli et non encore mis en ampoules une première tyndalisation et de le laisser au repos deux jours à la glacière avant de le répartir en ampoules.

Il se produit, en effet, après la première tyndalisation, une légère précipitation de matières albuminoïdes dont on évite ainsi la présence dans les ampoules.

(2) ARLO et CERTAIN (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 552) ont étudié la variation du pouvoir hémolytique des sérums de lapin antiglobules rouges de chèvre par rapport au nombre d'injections répétées d'hématies lavées ; d'après ces auteurs, le titre le plus élevé des hémolysines serait atteint après 2 injections (1-2 c. c.) sous-cutanées faites au lapin à 3 jours d'intervalle. De son côté, RUBINSTEIN (*C. R. Soc. Biol.*, 1917, p. 908) « étudiant le pouvoir hémolytique des sérums de

Au cours des préparations du sérum anti-ovalbumine de lapin que nous avons pratiquées depuis plusieurs années pour la recherche des albuminuries simulées, il nous a été possible de suivre, non seulement l'apparition des précipitines, mais encore de connaître la variation du pouvoir précipitant du sérum, par le dosage des précipitines avant chaque injection nouvelle.

Nous considérerons ici deux cas, suivant que l'albumine d'œuf a été injectée au lapin en plusieurs fois ou en une seule fois.

PREMIER CAS : *Les injections sont multiples.* — Le blanc d'œuf, non dilué, est injecté à 9 reprises successives et à 6 jours d'intervalle sous la peau du lapin ; les trois premières injections sont pratiquées aux doses respectives de $1/2$, 1, 1 c. c. $1/2$, les 6 autres à la dose de 2 centimètres cubes. Le titrage du pouvoir précipitant du sérum est effectué, suivant les conditions indiquées par nous (1), en présence de solution de blanc d'œuf dilué en liquide physiologique

lapins qui ont reçu 3 injections d'hématies de mouton, la détermination du titre ayant été faite avant chaque nouvelle injection et 7 jours après la troisième, a pu constater que, sur 11 lapins, le pouvoir hémolytique atteint généralement le maximum après la troisième injection ». Au lieu de plusieurs injections sous-cutanées d'hématies, on peut, au moyen d'une seule injection massive intrapéritonéale, obtenir l'apparition, en 8 jours, d'hémolysines dans le sérum du lapin ; dans ces conditions, le pouvoir hémolytique serait élevé selon SÉZARY (*C. R. Soc. Biol.*, 1917, p. 797), faible, au contraire, d'après RUBINSTEIN.

(1) HOLLANDE. — Remarques au sujet de la préparation et du titrage du sérum de lapin antiovalbumine, in *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1^{er} janvier 1918.

(NaCl, 9 grammes + H²O 1000 centimètres cubes) à 1 p. 100, 1 p. 1000, 0,50 p. 1000 et 0,25 p. 1000 (1). Parmi nos diverses observations, nous ne relaterons ici que celle que nous a fournie une série de 6 lapins, pris au hasard, et pesant 2.500 à 3.000 grammes. Chaque lapin reçut aux dates des 14, 20, 26 novembre et 3 décembre 1917, une injection sous-cutanée de blanc d'œuf non dilué à la dose de 1/2, 1, 1 1/2, 2 centimètres cubes ; les 8, 14, 20, 26 du même mois de décembre, ces lapins reçoivent une 5^e, 6^e, 7^e et 8^e injection de 2 centimètres cubes de blanc d'œuf ; la 9^e et dernière injection, de 2 centimètres cubes également, fut faite le 2 janvier 1918.

Le sérum des animaux, examiné 6 jours après chacune de ces injections, ne montre aucun pouvoir précipitant vis-à-vis du blanc d'œuf et cela jusqu'à la 5^e injection ; aucune précipitine n'apparaît donc avant 24 jours de traitement ; 6 jours après la 5^e injection, on note, pour la première fois, la présence de précipitines chez un seul lapin. Nous relatons dans le tableau suivant les différents titres en précipitines qu'acquièrent les sérums des animaux au cours de leur traitement, nous indiquons par les signes + et — ou ± l'action précipitante du sérum selon qu'elle se montre positive, négative, ou plus ou moins accusée vis-à-vis des solutions d'albumine d'œuf considérées.

(1) Le blanc d'œuf renfermant en moyenne de 10 à 13 p. 100 seulement de matières protéiques, ces solutions contiennent en réalité approximativement 0 gr. 10 p. 100 et 0 gr. 10, 0 gr. 05, 0 gr. 025 p. 1000 de substances albuminoïdes propres au blanc d'œuf.

**Titrages successifs
du pouvoir précipitant du sérum antiovalbumine.**

DATES	NOMBRE DE JOURS au moment du TITRAGE DES PRÉCIPITINES	LAPINS	DILUTIONS DU BLANC D'ŒUF EN EAU PHYSIOLOGIQUE AUX TAUX DE :			
			1	1	0,50	0,25
			p. 400	p. 1.000	p. 1.000	p. 1.000
14 déc. 1917.	6 jours après la 5 ^e injection (30 ^e jour de traitement).	1	—	—	—	—
		2	—	—	—	—
		3	+	±	—	—
		4	—	—	—	—
		5	—	—	—	—
		6	—	—	—	—
20 déc. 1917.	6 jours après la 6 ^e injection (36 ^e jour de traitement).	1	+	+	+	+
		2	+	+	+	±
		3	+	+	+	+
		4	+	+	+	+
		5	+	+	+	+
		6	+	+	+	+
26 déc. 1917.	6 jours après la 7 ^e injection (42 ^e jour de traitement).	1	+	—	—	—
		2	+	±	±	±
		3	+	±	±	±
		4	+	±	±	—
		5	+	±	±	—
		6	+	±	±	—
2 janv. 1918	6 jours après la 8 ^e injection (48 ^e jour de traitement).	1	+	+	+	—
		2	+	+	+	±
		3	+	+	+	+
		4	+	+	+	+
		5	+	—	—	—
		6	+	+	+	+
8 janv. 1918	6 ^e jour après la 9 ^e et dernière injection (54 ^e jour de traitement).	1	+	+	±	—
		2	+	+	+	+
		3	+	+	+	±
		4	+	+	±	—
		5	+	+	+	+
		6	+	+	+	+

DEUXIÈME CAS : *L'injection est unique.* — Le blanc d'œuf non dilué est injecté dans la cavité péritonéale à doses massives. 3 lapins reçoivent respectivement le premier, le 5 novembre 1917, 30 centimètres cubes de blanc d'œuf non dilué, le deuxième et le troisième, le 12 novembre 1917, 15 et 10 centimètres cubes de blanc d'œuf.

A partir du 17 novembre, les sérums sont examinés tous les 6 jours et cela jusqu'au 11 janvier 1918. Aucun des trois lapins traités ne présente de sérum précipitant, même en présence de la solution à 1 p. 100.

Comme nous le voyons, il existe de grandes différences pour la production de précipitines antiovalbumine selon que l'on procède par une seule injection massive ou par séries d'injections de petites doses d'ovalbumine. Les doses massives de blanc d'œuf introduites en une seule fois dans la cavité péritonéale de l'animal sont incapables de faire naître des précipitines dans son sérum (1).

Au début de la préparation du sérum antiovalbumine, nous avons également remarqué que, si l'on commence par injecter aux lapins, sous la peau, des doses supérieures à 5 centimètres cubes de blanc d'œuf non dilué, on n'obtient que des sérums peu ou pas précipitant, bien que l'on continue à effectuer, tous les 6 ou 8 jours, des injections sous-cutanées de 5 centimètres cubes ou plus d'ovalbumine.

Pour obtenir un bon sérum antiovalbumine, il est donc utile et nécessaire d'injecter aux lapins, au

(1) L'apparition des précipitines par injections sous-cutanées de petites doses d'ovalbumine — on obtient les mêmes résultats après de semblables injections intrapéritonéales — est bien plus lente à se produire (30 jours environ) que lorsqu'il s'agit d'hémolysines (8 jours d'après SÉZARY) ; elle varie du reste d'un animal à l'autre. Il n'y a donc pas parallélisme entre l'apparition des précipitines et des hémolysines ; toutefois, de même que pour les hémolysines, le titre des précipitines oscille au cours des injections ; dans l'expérience rapportée ici, ce titre atteint son maximum 6 jours après la 6^e injection (36 jours de traitement), décroît au bout du 42^e jour pour remonter vers le 54^e jour (6 jours après la 9^e injection), sans atteindre toutefois la valeur qu'il avait au 36^e jour.

début tout au moins, de petites doses d'ovalbumine. Dès le quarantième jour, il sera en général possible de prélever le sérum des animaux préparés.

6° MODE D'EMPLOI DU SÉRUM ANTIOVALBUMINE POUR LA RECHERCHE DE L'OVALBUMINE DANS L'URINE. — Pour pratiquer la recherche de l'ovalbumine dans l'urine, on doit autant que possible auparavant en prendre la densité et, si elle est inférieure à la normale 1023-1025, la ramener à ce titre par l'addition de la quantité nécessaire de chlorure de sodium cristallisé et pulvérisé.

Si l'on évite de prendre cette précaution, il est possible, comme nous l'avons remarqué, et ainsi que quelques auteurs l'ont signalé, de constater la formation d'un louche en dehors de toute précipitation spécifique. Ce louche tient à ce fait que l'urine étant parfois peu riche en substances salines (urine dans le mal de Bright par exemple), les globulines du sérum précipitent en présence de l'urine, comme elles précipiteraient en présence de l'eau distillée.

Si l'on n'a pas de densimètre à sa disposition, ou si la quantité d'urine remise pour l'analyse est insuffisante, on peut se contenter dans la plupart des cas d'ajouter 0 gr. 50 à 1 gramme de NaCl pour 100 centimètres cubes d'urine.

Ces corrections, s'il y a lieu, étant faites, on procède à la réaction des précipitines.

A cet effet, dans deux petits tubes de verre, semblables à ceux que l'on utilise pour les séro-diagnos-tics ou la réaction de Wassermann par exemple, on verse : dans l'un, un demi-centimètre cube de l'urine

suspecte, dans l'autre, un égal volume de sa propre urine, ou, mieux, du liquide physiologique (NaCl à 9 p. 1000). Puis dans chacun de ces tubes, on laisse tomber sur les parois du tube incliné environ cinq gouttes de sérum antiovabumine, soit le contenu d'une ampoule (1). (Casser l'ampoule aux deux extrémités, puis accoler un des orifices formés contre la paroi du tube ; par capillarité le liquide s'écoulera de lui-même).

Lorsque l'urine renferme de l'ovalbumine, on voit se produire assez rapidement, à la limite de séparation du liquide et de l'urine (partie inférieure du tube), généralement au-dessus du sérum, un anneau formé par un précipité qui va en augmentant de plus en plus, pour devenir très net au bout de quelques minutes ; en agitant, le trouble augmente. Le tube témoin ne doit jamais présenter de précipité, lorsque le sérum est bien conservé.

Toutes les fois que l'on aura obtenu un précipité avec l'urine suspecte, on devra, en outre, contrôler l'action précipitante du sérum avec du liquide physiologique renfermant environ 1 centimètre cube de blanc d'œuf pour 100 centimètres cubes de liquide.

Un sérum bien conservé ne doit pas précipiter au contact du liquide physiologique à 9 p. 1000. A peine doit-il donner un léger louche en présence de ce liquide s'il est de date ancienne ; encore faut-il pour

(1) Les ampoules préparées par le laboratoire militaire régional de bactériologie de Chambéry renfermaient environ trois dixièmes de centimètre cube de sérum. Chaque ampoule portait la date de sa préparation.

pouvoir utiliser un tel sérum que le louche qu'il donne au contact du liquide physiologique ne puisse être confondu avec le précipité réel que donne le sérum en présence d'une faible quantité d'ovalbumine ; quant à nous, nous rejetons systématiquement tout sérum antiovalbumine qui donne un louche avec le liquide physiologique à 9 grammes de NaCl p. 1000 centimètres cubes d'eau distillée.

Le sérum antiovalbumine de date ancienne peut s'altérer et perdre sa force de précipitation. Nous n'utilisons en général que des ampoules datant de moins de six mois. Il est naturellement indispensable dans tous les cas de s'assurer avant de s'en servir que le sérum soit clair et ne renferme pas de précipité.

CHAPITRE II

La réaction des précipitines spécifiques sur l'urine dans l'albuminurie provoquée par ingestion et lavement d'épreuve de blancs d'œuf ⁽¹⁾.

On sait qu'à la suite de l'ingestion en quantité anormale de diverses matières albuminoïdes (caséine, myosine, ovalbumine, etc.), on peut parfois observer chez l'homme l'apparition d'une albuminurie passagère (EICHORST, LEHMANN, STOKES, etc.). Une semblable albuminurie se rencontre également après introduction par voie rectale, d'une de ces matières protéiques.

Toutefois, la plupart des auteurs admettent que dans ces conditions, l'apparition de l'albumine dans l'urine est liée à la présence de lésions rénales préexistantes ; le rein sain ne laissant pas filtrer la substance albuminoïde introduite, à dose élevée, dans l'organisme. CASTAIGNE a même imaginé « d'appliquer cette

(1) Cf. A.-Ch. HOLLANDE et H. LEVRAT. — *Journ. Pharm. et Chimie*, t. XVI, n° 7, 1917.

méthode à la recherche des lésions latentes du rein, en particulier pour dépister l'état morbide qu'il désigne sous le nom de débilité rénale (1).

Ayant eu à examiner une série de malades hospitalisés pour diverses lésions rénales, et en particulier des néphrites avec ou sans albuminurie, nous avons eu souvent recours à l'épreuve de l'albuminurie provoquée par l'introduction par voie rectale d'albumine étrangère à l'homme. Nous avons utilisé comme matière protéique l'ovalbumine, nous réservant de rechercher par un sérum antiovalbumine si la substance albuminoïde apparaissant dans l'urine, au cours de l'épreuve, était constituée ou non par de l'ovalbumine proprement dite.

Le but que nous poursuivions de la sorte était double : savoir tout d'abord si une substance albuminoïde donnée absorbée par les muqueuses du gros intestin pouvait être éliminée de l'organisme par la voie rénale sans avoir été modifiée ; constater ensuite qu'un sujet ayant simulé une albuminurie par addition de blanc d'œuf à son urine ne pourrait se targuer d'avoir introduit par voie rectale dans son tube digestif comme lavement émollient l'ovalbumine que l'on retrouverait dans son urine.

Nous avons effectué l'épreuve d'albuminurie provoquée suivant les indications de CHIRAY. Le matin, à jeun, on administre un lavement évacuateur (30 grammes de glycérine + 750 centimètres cubes d'eau bouillie) ; puis, une heure après, le malade

(1) Cité d'après AGASSE-LAFONT. *Les applications pratiques du laboratoire à la clinique*, 1915.

reçoit le lavement d'épreuve formé de « six blancs d'œuf battus », dilués dans une quantité d'eau physiologique suffisante pour obtenir 250 centimètres cubes ; le tout est additionné de 40 gouttes de laudanum de Sydenham. Le malade étant en position déclive, le siège soulevé par des coussins, « on introduit le lavement à l'aide d'une sonde rectale, enfoncée aussi haut que possible, et avec un bock à injections » placé à la hauteur de 80 centimètres. « Il est nécessaire de porter le lavement très haut dans l'intestin, car l'épreuve n'est valable que si le blanc d'œuf est mis au contact des parties absorbantes de l'intestin. et l'on sait que les tout derniers segments ne sont que faiblement absorbants (1). » On doit veiller à ce que le lavement soit gardé par le malade.

Nous relaterons ici, les principaux cas que nous avons pu observer :

OBSERVATION I

T....., 35 ans ; tachycardie légère ; pas de bruit de galop ; état général satisfaisant ; légers symptômes de néphrite ; a présenté le 27 septembre 1916 quelques cylindres hyalins dans ses urines avec trace d'albumine, volume des urines 1500 centimètres cubes en moyenne par vingt-quatre heures. Après régime lacto-végétarien, le 17 octobre, l'urine renferme encore des traces indosables d'albumine ; le 28 octobre, absence d'albumine ; à cette époque, on administre un lavement d'épreuve de six blancs d'œuf à neuf

(1) *Loc. cit.* AGASSE-LAFONT, p. 596. .

heures du matin, après lavement évacuateur donné une heure avant ; à 10 heures, repas lacto-végétarien, on note :

a) 1^{re} émission à 12 heures. — Traces imperceptibles d'albumine ; présence de petites quantités de pseudo-albumine.

b) 2^e émission, 14 h. 30. — Augmentation de l'albumine (0 gr. 20 p. 1000) ; augmentation également de la pseudo-albumine ; le réactif de Maurel ne donne lieu à aucun précipité. La réaction des précipitines avec le sérum anti-ovalbumine est négative.

c) 3^e émission, 16 h. 15. — Absence de pseudo-albumine ; traces d'albumine.

A 17 heures, repas lacto-végétarien.

d) 4^e émission, 18 heures. — Absence d'albumine et de pseudo-albumine.

Les urines de la nuit ne renferment pas d'albumine ; il en est de même de celles du lendemain.

Conclusions. — Apparition d'une légère albuminurie passagère à la suite du lavement d'épreuve ; cette albumine n'est pas formée d'ovalbumine.

OBSERVATION II

G. . . . , 38 ans, albuminurie massive (4 grammes) constatée le 1^{er} septembre 1916 ; arrivé à Chambéry le 2 octobre ; présente à cette époque une dyspnée assez prononcée, sans Cheynes-Stokes ; il existe un certain degré d'œdème des membres inférieurs qui disparaît après quelques jours de lit ; tachycardie (112 pulsations) ; pas d'hypertrophie du cœur, ni de bruit de galop ; quelques râles d'œdème aux deux bases des poumons ; amaigrissement notable ; hy-

pertension artérielle ; augmentation du taux de l'urée dans le sérum ; *néphrite avec azotémie*.

Le 8 octobre, l'examen des urines donne : volume en vingt-quatre heures 1600 centimètres cubes, densité 1011, albumine 1 gr. 50 p. 1000 ; réaction de Maurel négative ; sédiments formés de cylindres granuleux et hématiques.

Le 9 octobre, après lavement d'épreuve, on constate :

a) 1^{re} émission, 12 heures. — Présence d'albumine 1 gr. 50 p. 1000 centimètres cubes.

b) 2^e émission, 14 heures. — Augmentation d'albumine 2 gr. 20 p. 1000 centimètres cubes.

c) 3^e émission, 17 heures. — Diminution d'albumine, 1 gr. 80 p. 1000 centimètres cubes.

L'urine de nuit et du matin renferme 1 gr. 70 p. 1000 centimètres cubes d'albumine. Avec chaque émission, le réactif de Maurel n'a fourni aucun précipité ; il en est de même avec le sérum antiovalbumine.

Conclusions. — A la suite du lavement d'épreuve, le taux d'albumine a augmenté, puis est revenu à sa normale vers la fin de la journée. Ce malade est décédé le 20 mai 1917.

OBSERVATION III

Caporal P....., âgé de 36 ans. *Néphrite albumineuse avec hypertension artérielle sans tubuli*. Albuminurie constatée à l'occasion d'une vaccination antityphique ; aurait eu des hématuries, il y a quatre ans. Au 11 août 1917, albumine dans les urines à la dose de 1 gr. 28 pour 1000 centimètres cubes par 24 heures ; oligurie ; pas de retentissement cardiaque net ; légère dyspnée d'effort ; conservation relativement bonne de l'état général.

Le 12 août, après lavement d'épreuve, on observe :

a) 1^{re} émission à 11 heures. — Présence d'albumine, 2 gr. 75 p. 1000.

b) 2^e émission à 14 heures. — Albumine 2 gr. 60 p. 1000.

3^e — 16 — — Albumine 2 gr. p. 1000.

4^e — 17 — — Albumine 1 gr. 80 p. 1000.

L'urine de la nuit renferme 0 gr. 70 p. 1000 d'albumine. Le réactif de Maurel a donné une fois un léger louche ; le sérum antiovalbumine n'a jamais fourni de précipité.

Conclusions. — L'albumine qui est augmentée à la suite du lavement d'épreuve n'est pas formée d'ovalbumine.

OBSERVATION IV

R., âgé de 43 ans (1) ; atteint de maladie de Dercum ; albuminurie constante (0 gr. 75 p. 1000 en moyenne en 24 heures) ; absence de tubuli ; pas d'œdème des membres inférieurs.

Les émissions d'urines après le lavement de six blancs d'œuf ne montre qu'une légère augmentation de l'albumine vers la quatrième heure ; absence de précipité avec le sérum spécifique antiovalbumine.

OBSERVATION V

B. L., 36 ans ; malade entré à l'hôpital en hypostolie ; gros cœur, mou, se contractant mal ; albuminurie abondante (3 grammes) ; cyanose de la face, refroidis-

(1) L'observation de ce malade a fait le sujet d'une note spéciale. Cf. A propos d'un cas de maladie de Dercum. A.-C. HOLLANDE et J. MARCHAND ; in *Lyon Médical*, mars 1917

sement des extrémités. Après repos, lait et digitaline : bruit de galop et albuminurie persistante à 0 gr. 25 p. 1000; pas de lésions valvulaires ; par de cylindrurie ; ces troubles seraient apparus après une atteinte de rhumatisme articulaire.

Au moment où l'on donne le lavement d'épreuve, le malade ne présentait plus d'albumine dans ses urines ; la cinquième heure qui suit le lavement, l'urine du malade renferme de faibles quantités d'albumine, non précipitée par le réactif de Maurel ; le sérum antioalbumine est sans action.

OBSERVATION VI

T....., âgé de 30 ans ; a demeuré deux ans et demi au front, a été évacué de Verdun pour albuminurie ; à Chambéry, albuminurie persistante (1 gr. 80 par 24 heures) à l'entrée ; après quatre mois, 0 gr. 50 à 1 gr., le malade étant resté au régime spécial avec lait comme boisson ; ni polyurie, ni oligurie ; présence dans les urines de quelques cylindres granuleux à l'examen du culot de centrifugation ; léger œdème des membres inférieurs ; légère hypertrophie cardiaque (pointe au sixième cartilage costal) ; éréthisme et tachycardie sans lésion organique du cœur ; pas de troubles visuels ; *néphrite chronique*. La veille et le matin du lavement d'épreuve le malade ne présente plus d'albumine ; il demeure au régime lacto-végétarien.

Les émissions d'urine, après lavement d'épreuve donné à 10 heures, fournissent les résultats suivants :

a) 1^{re} émission à 14 heures. — Traces d'albumine.

b) 2^e émission à 17 heures. — Petite quantité d'albumine, (0 gr. 25 p. 1000 centimètres cubes).

Les urines de la nuit renferment également des traces d'albumine.

Durant la journée suivante, le malade élimine encore des quantités impondérables d'albumine ; le réactif de Maurel et le sérum antiovalbumine n'ont donné lieu à aucun précipité.

Conclusions. — A la suite du lavement d'épreuve, apparition de traces d'albumine chez un néphrétique chronique -- sans albumine au moment de l'expérimentation -- soumis depuis plusieurs mois à un régime sévère lacto-végétarien ; cette albumine n'est pas formée d'ovalbumine.

OBSERVATION VII

A titre de témoins, nous avons procédé de semblable façon, chez quatre sujets dont les reins étaient sains, jamais nous n'avons constaté la présence d'albumine dans leurs urines.

.

De ces observations, nous concluons que chez les sujets sains, l'absorption par voie rectale de six blancs d'œuf ne détermine pas l'apparition d'albumine dans les urines ; chez les sujets dont le rein est lésé, mais qui ne présentent pas d'une façon permanente de l'albumine dans les urines, on constate dans les premières émissions qui suivent le lavement d'épreuve l'apparition d'albumine ne possédant pas les caractères de l'ovalbumine et vis-à-vis de laquelle le sérum

antiovalbumine est, partant, sans action ; lorsque l'albuminurie préexiste, on observe, en général, une augmentation du taux de l'albumine émise, mais dans ce cas encore, la substance albuminoïde n'est pas formée d'ovalbumine.

En faisant ingérer à des sujets sains, et à des sujets atteints de néphrite, avec ou sans albuminurie, des blancs d'œuf crus ou cuits à la dose de trois à six par jour, nous avons constaté que cette ingestion permettait parfois d'obtenir avec le réactif de Maurel, un léger anneau, mais nous n'avons jamais vu se produire la réaction des précipitines. Dans les observations que nous rapportons plus loin, nous mentionnons en détail, un cas de ce genre.

Que l'ovalbumine, à la dose de six blancs d'œuf crus, soit introduite dans le tube digestif par la voie buccale ou par la voie rectale, elle ne se retrouve donc pas dans l'urine, — même lorsqu'il y a apparition d'albumine ou augmentation du taux de l'albuminurie — sous sa forme spécifique, c'est-à-dire précipitable par son antisérum.

Ces constatations sont importantes à signaler au point de vue médico-légal, car elles permettent d'affirmer, en présence d'une urine renfermant de l'ovalbumine reconnue par l'action du sérum antiovalbumine, que cette matière albuminoïde a été introduite dans l'urine dans un but de simulation.

Au point de vue biologique, elles montrent également que l'ovalbumine absorbée arrive dans l'urine sous une forme différente de celle sous laquelle elle existe normalement, à moins, ce qui paraît beaucoup

plus probable, qu'il y ait simplement dans les albuminuries ainsi provoquées, élimination de substances albuminoïdes d'origine humaine (1).

(1) Ce problème ne pourrait être résolu que par la recherche, au moyen des précipitines appropriées, de la nature des substances albuminoïdes éliminées.

Nous signalerons ici à ce sujet qu'en préparant différents anti-sérums au moyen des albumines (séparées par le sulfate d'ammoniaque) du sang de l'homme, il serait possible de reconnaître la nature chimique de l'albumine constatée dans l'urine des albuminuriques. Il est bien certain que les albuminuries ne sont pas les mêmes pour tous les cas considérés. En précipitant les urines albumineuses par du sulfate d'ammoniaque en excès, il est, en effet, possible (comme nous avons pu nous en assurer), en recueillant le précipité albuminoïde formé et en le redissolvant *de suite* dans du liquide physiologique à 9 p. 1000, d'obtenir un antigène déterminé ; cet antigène concentré de la sorte, et injecté à doses successivement croissantes à un lapin donne lieu à la formation d'un antisérum correspondant. Par les antisérums obtenus ainsi avec les diverses substances albuminoïdes de l'urine employées comme antigènes, il devient alors possible d'utiliser la réaction des précipitines pour déterminer, — par la formation des précipités formés par ces antisérums au contact de l'urine albumineuse donnée, — la nature de l'albuminurie en présence de laquelle on se trouve. On pourrait également par l'action de ces antisérums rechercher si l'albumine trouvée dans l'urine existe préformée dans le sérum du malade et si elle lui est propre, autrement dit, de savoir si elle provient d'un métabolisme spécial qui ne s'établirait qu'au cours de la maladie. Par ce même moyen, on pourrait enfin reconnaître si l'albumine observée dans l'urine examinée résulte d'une modification physico-chimique apportée par l'action des diastases des cellules rénales, aux albuminoïdes du sang humain.

Nous avons déjà eu l'occasion d'entreprendre ce genre de recherches, mais par suite des circonstances dans lesquelles nous nous sommes trouvés, il ne nous a pas été possible de les poursuivre. Toutefois, nous signalerons que nous n'avons pas obtenu, — à moins que l'urine ne renfermât du sang (hématuries) — de précipité en mettant l'urine albumineuse des néphrites à tubuli au contact d'un antisérum de lapin préparé avec le sérum de l'homme. Les recherches que nous avons effectuées à ce sujet ont été faites sur un trop petit nombre d'urines pour que nous puissions considérer ces derniers résultats comme devant être admis de façon définitive. Cf. HOLLANDE (1919).

CHAPITRE III

De la valeur du sérum antiovalbumine comme réaction spécifique de l'ovalbumine dans l'urine.

La réaction précipitante d'un antisérum étant considérée par la plupart des chimistes comme une réaction délicate et ne pouvant être appliquée que par des bactériologistes expérimentés, nous avons éprouvé au début une certaine difficulté à faire accepter dans les laboratoires la recherche de l'ovalbumine dans l'urine par la méthode des précipitines.

Il nous fallut envoyer des ampoules de sérum toutes prêtes pour que la réaction fut tentée.

Aussi avons-nous constaté après nos premières publications, qui remontent au commencement du mois d'octobre 1915, une période de plus d'un an avant que la recherche de l'ovalbumine dans l'urine soit entreprise dans les divers laboratoires. Il est bien certain que depuis les hostilités jusqu'à

fin 1916, les simulateurs purent ainsi sans grands ennuis se livrer à la pratique de leur fraude.

Les premières publications des auteurs se rapportèrent uniquement à la recherche de l'ovalbumine par les réactifs chimiques (Maurel et mélange acétoformol) que nous avons indiqués. La critique fut même parfois vive et nous fûmes obligés dans une note intitulée : « La recherche de l'ovalbumine dans l'urine et la méthode spécifique des précipitines » (1) de montrer que les réactifs chimiques que nous avons mentionnés ne l'avaient été uniquement par nous que comme réactifs indicateurs, et non comme réactifs chimiques. Nous insistons dans ce travail en disant que seule la réaction des précipitines fournie par un sérum antiovalbumine devait être considérée comme spécifique de l'ovalbumine de poule dans l'urine.

Le seul défaut de l'antisérum à reconnaître, est le louche très léger que celui-ci peut donner en présence d'urines à densité faible ou d'urine déchlorurée en l'absence d'ovalbumine. Dans ce cas, il suffit, comme nous l'avons déjà dit précédemment, de chlorurer de telles urines pour éviter généralement le louche en question. Il n'y a d'ailleurs rien de comparable entre ce louche (dû à la précipitation légère des globulines du sérum au contact d'un liquide peu riche en substances salines) et la formation du précipité que l'on obtient en présence des faibles quantités (0 gr. 10 par litre par exemple) d'ovalbumine que l'on peut rencontrer dans l'urine. En cas de doute possible, il suffit

(1) HOLLANDE. — *Journal Pharm. et Chimie*, février 1917.

du reste de préparer une solution d'ovalbumine à 0 gr. 10 par litre dans du liquide physiologique et de comparer le louche précédemment obtenu avec le précipité formé à la limite de séparation du sérum et de la solution d'ovalbumine.

On peut en outre éviter facilement cet inconvénient si l'on veut bien effectuer la recherche de l'ovalbumine sur les substances albuminoïdes de l'urine extraites par le procédé au sulfate d'ammoniaque que nous indiquons, et redissoutes en liquide physiologique à 9 grammes de NaCl p. 1000 centimètres cubes d'eau distillée (Cf. page 105).

Dans ces conditions, la recherche de l'ovalbumine a autant de valeur que celle de la recherche du sang humain par la méthode des précipitines, et nous ne pensons pas qu'une telle méthode ait été justement critiquée lorsqu'elle est effectuée avec un antisérum récent.

On peut pratiquer la recherche de l'ovalbumine dans l'urine par le sérum antiovalbumine, même après l'addition d'un antiseptique à l'urine albumineuse, addition faite dans un but de conservation momentanée, lorsque l'on n'a pas le sérum sous la main.

PELTRISOT (1917) en ajoutant à l'urine du thymol ou du chloroforme, a, en effet, constaté que la réaction des précipitines s'effectuait sur des urines ainsi traitées.

Suivant le même auteur, une urine fermentée renfermant de l'ovalbumine, traitée par du talc, et filtrée donne un liquide clair, sur lequel il est aussi possible

de mettre en évidence la présence de l'ovalbumine par la réaction des précipitines.

Au cours de la bibliographie se rapportant à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine de l'homme, nous avons relevé une série d'appréciations et opinions diverses émises par les auteurs quant aux résultats obtenus par eux après l'emploi du sérum anti-ovalbumine. Nous nous ferons un devoir de les rapporter ici et avec toute l'impartialité qu'il convient.

En 1917, PELTRISOT (1) s'exprime ainsi : « On devra chaque fois que ce sera possible, confirmer les procédés chimiques par la méthode des précipitines *dont la spécificité est remarquable.* » « J'admets donc bien, dit le même auteur (1918), et je tiens à le redire hautement que le sérum de Hollande est, à l'heure actuelle, le seul réactif spécifique de l'ovalbumine. » (2) Enfin, PELTRISOT ajoute encore : « Toutefois pour terminer et pour qu'il ne subsiste aucun malentendu concernant mon opinion à ce sujet, je déclare encore une fois, au risque de paraître me répéter, qu'à mon avis aucune réaction chimique ne peut à elle seule, dans l'état actuel de nos connaissances, se targuer d'une spécificité supérieure ou même égale à celle du sérum de M. Hollande. » (3).

Dans le travail dont nous venons de citer quelques passages se rapportant au sérum antiovalbumine, PELTRISOT répondait surtout aux critiques exposées dans la note de PAGEL (*mars 1918*) et dans les mémoi-

(1) *Journ. Pharm. et Chimie*, 1917, t. XVI, p. 309.

(2) *Bull. Sc. Pharm.*, p. 152.

(3) *Bull. Sc. Pharm.*, mai-juin 1918, p. 156.

res de P. GODFRIN¹ (*Journ. pharm. et chimie*, 1917 et 1918).

PAGEL s'était en effet exprimé ainsi : « M. Peltriset, après avoir étudié les différents travaux sur la question des albuminoïdes, arrive, au sujet de l'ovalbumine, aux conclusions suivantes :

« 1° La réaction des précipitines de Hollande demande à être contrôlée ;... »

Quant à P. GODFRIN qui, en 1916, pensait que la réaction des précipitines ne pouvait devenir d'une application très courante, il reconnaissait en 1918 « qu'elle présente sur les réactions chimiques l'avantage d'être spécifique. »

P. GODFRIN (1918), incline néanmoins à rechercher l'ovalbumine de l'urine par les méthodes chimiques, et signale que *le sérum antiovalbumine de poule est trop spécifique* puisqu'il ne donne pas de précipité avec les urines renfermant l'ovalbuminate de cane (1). Le même auteur fait remarquer le louche que l'on constate quelquefois avec l'antisérum au contact de l'urine. « Peut-être, dit-il, en note (*Journ. pharm. et chim.* 1918, p. 394), faut-il attribuer à une altération du sérum le louche assez accusé que l'on obtient parfois avec certaines urines non suspectes et de densité normale. Je ferai cependant remarquer que j'ai obtenu des louches très nets avec un sérum dont la date de préparation remontait seulement à trois mois et qui d'ailleurs ne troublait pas le sérum physiologi-

(1) C'est à notre avis une supériorité au contraire, et, dans le cas où des simulations d'albuminurie se feraient avec l'ovalbumine de cane, il serait possible de préparer, de même qu'avec l'ovalbumine de poule, des sérums de lapin antiovalbumine de cane.

que. Quoi qu'il en soit, c'est là un inconvénient sérieux qui rend incertaine la caractérisation de faibles quantités d'ovalbumine. »

Nous avons déjà indiqué la formation d'un tel louche et nous avons dit qu'il suffisait de chlorurer les urines qui le présentaient pour éviter sa formation ; car il ne suffit pas toujours qu'une urine ait une densité normale pour que le louche indiqué ne se produise pas, il faut encore que le taux de chlorure soit suffisant ; c'est pourquoi dans de tels cas, très rares, il est vrai, il peut être utile de rechercher l'ovalbumine en liquide physiologique après son extraction de l'urine au moyen du sulfate d'ammoniaque (page 105) ; nous répétons d'ailleurs que par comparaison avec des solutions chlorurées renfermant de faibles doses d'ovalbumine (0 gr. 05, 0 gr. 10, 0 gr. 15, 0 gr. 20) par litre, il est facile de se rendre compte que le louche en question n'est pas comparable au précipité que l'on obtient (au bout de cinq minutes par exemple) avec une solution ne renfermant que 0 gr. 20 d'ovalbumine par litre (1).

P. GODFRIN critique encore la durée de conservation du sérum antiovalbumine. « La conservation du sérum n'est pas illimitée, dit-il. J'ai eu entre les mains un sérum ayant quatorze mois de date, qui était devenu à peu près inactif. » Cela est très possible, et comme nous l'avons maintes fois répété, un sérum âgé de plus de six mois devra être contrôlé au moyen de solutions titrées d'ovalbumine, suivant le procédé que

(1) En cas d'un tel louche, le mélange agité ne dépose pas de précipité.

nous avons fait connaître (Cf. page 105), avant d'être utilisé. Mai si nous avons constaté également, comme P. GODFRIN, que des sérums âgés de plus d'un an avaient perdu en majeure partie leur pouvoir de précipitation, il nous a été possible de constater aussi des sérums datant de deux ans et demi qui étaient encore parfaitement aptes à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine.

A Ed.-Justin MUELLER (1918), « la méthode aux précipitines n'a jamais donné de résultats bien nets », aussi l'auteur qui, du reste, écrit cette phrase en simple note de son travail sur « La simulation d'albuminurie (contribution à la recherche de l'ovalbumine) » [*J. ph. et chimie*, p. 201], n'attache-t-il aucune importance à la recherche de l'ovalbumine par la réaction des précipitines ; aussi Justin MUELLER se contente-t-il de déclarer simulateurs les sujets dont les urines offrent quelques indices macroscopiques et microscopiques de probabilité (trouble, filaments), et qui, en présence du réactif de Maurel, dont il donne une formule modifiée (voir page 22), fournissent un précipité. « Nous avons, dit-il, page 202, dépisté de la sorte un certain nombre de simulations ; les sujets mis en observation avouèrent leur forfait, ce qui est la confirmation des observations faites, *ainsi que la preuve de l'efficacité de la méthode employée.* » Nous ne pouvons que nous élever contre une telle façon de procéder, car tous les auteurs ont montré que le réactif de Maurel n'était pas spécifique. Nous avons pu retrouver les mêmes inconvénients avec le réactif de Maurel modifié par Ed.-Justin MUELLER. Nous

signalerons que cet auteur est le seul qui n'ait obtenu aucun résultat avec la méthode des précipitines. Bien que pour effectuer la réaction des précipitines, il faille sans doute une certaine délicatesse dans la manière d'opérer, nous ne concevons pas comment cet auteur n'ait pu se familiariser avec cette réaction, surtout s'il a pris la précaution — ce qu'il ne dit pas, mais ce que nous devons supposer — de l'essayer, au moins pour se rendre compte de sa valeur, sur des solutions titrées d'ovalbumine en solution dans le liquide physiologique (1).

BARBE (1918) qui utilise également un réactif de Maurel modifié (liqueur cupro-ammoniacale, voir

(1) Sans vouloir préjuger de la façon de travailler de Ed.-Justin MUELLER, qu'il nous soit simplement permis de rapporter l'opinion de V. BORRIEN au sujet d'une « méthode volumétrique rapide et clinique de l'albumine » publiée par Justin MUELLER, dans le *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, t. XXIV, p. 29 et p. 221, 1917. V. BORRIEN s'exprime ainsi dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1^{er} décembre 1917, p. 333 : « Ayant eu l'occasion de suivre de près les travaux de l'auteur, je crois pouvoir me permettre de faire la critique de cette méthode de dosage qui, je dois l'avouer, m'avait séduit, à première vue.... Mes observations personnelles, et particulièrement celles que j'ai pu recueillir parmi les collègues qui ont essayé cette technique, m'obligent à la considérer comme *insuffisamment étudiée et un peu hâtivement publiée*.... On ne peut songer à substituer aux procédés sûrs et ayant dûment fait leurs preuves, des méthodes capables de fournir des résultats rapides, sous prétexte de commodité pratique. C'est pourquoi, à mon avis, la méthode Ed.-J. MUELLER ne peut être retenue parmi les travaux urologiques utiles. » En admettant que Ed.-Justin MUELLER n'ait pas obtenu de réactions nettes avec le sérum antiovalbumine qu'il a eu entre les mains et qui, peut-être, était altéré ou mal préparé, il aurait dû préparer lui-même un sérum de lapin antiovalbumine et l'essayer avant d'oser se prononcer aussi catégoriquement vis-à-vis d'une méthode dont il nous semble ignorer l'importance et qui a fait ses preuves en biologie.

page 23) ne conclut au moins pas sans effectuer la réaction des précipitines qui ne lui a jamais paru en défaut. Les conclusions de Barbe sont les suivantes :

« En résumé, quand le réactif que j'utilise a donné avec une urine un anneau très net et bien délimité, quand le réactif des précipitines de Hollande a donné également une réaction positive, *il est possible d'affirmer, sans crainte de commettre une erreur, que l'urine examinée contient de l'ovalbumine.* » *Loc. cit.*, p. 121.

En dernier lieu, nous mentionnerons l'opinion de M. le Professeur SERR et de MM. BIRON et BRETTE (1917).

« La réaction de HOLLANDE, disent ces auteurs, recherchée au moyen d'un sérum antiovalbumine, est *très manifestement spécifique* de la présence de l'albumine de l'œuf. Il est pourtant utile de signaler que le trouble du sérum lui-même ne suffit pas pour que la réaction soit déclarée positive ; on doit seulement la considérer comme telle lorsqu'il existe un anneau net au contact des deux liquides. » *Loc. cit.*, p. 398.

Comme on peut s'en rendre compte à la lecture de l'exposé qui précède, nous avons tenu à rapporter fidèlement, d'une façon impartiale, les diverses opinions des auteurs ; d'une manière générale, l'action spécifique du sérum antiovalbumine est admise par tous pour identifier l'ovalbumine de poule dans l'urine. Le seul reproche que l'on puisse faire à la technique de cette méthode biologique, si précieuse, est l'appari-

tion d'un louche plus ou moins sensible avec des urines ne renfermant pas d'albumine. Nous avons assez insisté, croyons-nous, sur la nature, l'origine de ce louche et les moyens (addition de NaCl) employés pour empêcher sa formation, pour qu'il nous soit inutile d'y revenir actuellement. En utilisant notre méthode d'extraction des albuminoïdes au sulfate d'ammoniaque, il devient du reste aisé de supprimer un tel inconvénient (Cf. page 105).

Dans un seul cas, le sérum anti-ovalbumine pourra se montrer en défaut ; ce cas ne s'est jamais révélé dans la pratique, et nous nous sommes bien gardés de l'indiquer durant les hostilités. Nous avons reconnu en effet que, si le simulateur, au lieu d'introduire dans son urine de l'ovalbumine, y versait de l'ovalbuminate de soude, le sérum antiovalbumine serait sans action sur l'ovalbumine transformée ; — encore faudrait-il expressément que toute l'ovalbumine (1) soit transformée en sel alcalin, pour ne pas obtenir de précipité. Mais une telle urine serait aisément reconnaissable à ses propriétés physico-chimiques. Premièrement, l'acidité de l'urine serait très diminuée ou même remplacée par une forte alcalinité ; or, les urines alcalines sont rares et même n'existent pour ainsi dire pas en dehors de l'absorption d'alcalins (eaux de Vichy, de Pougues, bicarbonate de

(1) Le précipité formé par l'albumine, au contact d'un sérum, est soluble dans la soude diluée, ou dans toute autre base ; ceci explique, en partie, pourquoi on n'obtient pas de réaction de précipitation avec le sang humain par son antisérum lorsque celui-ci a séjourné au contact de la chaux ou de toute autre base. En ce cas là, il se forme aussi des albuminates alcalins non décelables par le réactif employé.

soude, etc.) ; secondement, l'urine chauffée à 100° ne précipiterait pas (les alcalino-albumines étant solubles à chaud), tandis que les acides, tels que l'acide nitrique ou acétique donneraient lieu, à froid, à la formation d'un abondant précipité.

Pour nous donc, hormis le cas dont il vient d'être fait mention, et où il s'agit d'ovalbuminate de soude et non d'ovalbumine, le sérum antiovalbumine de poule est le seul réactif spécifique qui permette d'affirmer la présence de l'ovalbumine de poule (1) dans l'urine additionnée de cette substance albuminoïde ; nous dirons avec PELTRISOT qu' « en dernier ressort, après avoir effectué les réactions chimiques connues, les précipitines devront se prononcer. » Toutes les fois que cela sera possible, la mise en observation du simulateur viendra dès lors confirmer les résultats acquis.

(1) Si la simulation d'albuminurie était faite par l'adjonction d'une substance albuminoïde autre, telle que l'ovalbumine de cane, le sérum ou le sang d'animaux divers, on pourrait reconnaître facilement ces substances protéiques par leurs antisérums réciproques. La présence d'une flore polymicrobienne (flore de fermentation) dans ces urines constituerait un indice précieux de probabilité. La mise en observation du malade donnerait en ce cas de sérieuses indications. Il nous a été ainsi possible, durant les hostilités, de déceler une albuminurie simulée par un homme avec le seul examen microscopique du culot de centrifugation de son urine émise en notre présence. Cet homme, qui avait été envoyé dans un centre spécial pour albuminurie et qui n'avait pas d'albumine dans ses urines, avait trouvé très simple de prélever dans une fiole l'urine albumineuse de son voisin et d'en verser une partie, au laboratoire, dans le verre dans lequel il urinait. La présence de nombreuses bactéries mobiles de la fermentation urinaire et le trouble du liquide, nous révéla l'origine de cette urine. Le malade prévenu ne recommença pas sa tentative.

CHAPITRE IV

Observations sur quelques cas de simulation d'albuminurie.

Les observations publiées se rapportant à la simulation d'albuminurie par l'ovalbumine n'étant pas très nombreuses, bien que ce genre de simulation ait été à un moment donné très employé d'après les renseignements que nous avons pu recueillir, il nous a paru utile d'en reproduire ici les principales, en ajoutant les nôtres.

Nous avons tenu tout spécialement à mentionner à peu près *in-extenso* l'observation de M. le Professeur SERR de la Faculté de Médecine de Toulouse, car elle démontre nettement combien il était aisé pour un simulateur intelligent, habile et malade, — en introduisant, par un procédé ingénieux, constamment la même dose d'ovalbumine dans ses urines, — de faire croire au médecin et au chimiste non avertis, à la possibilité d'une albuminurie réelle.

Nous avons pu, nous-mêmes, observer un simulateur (Observation XIX) qui avait, en versant de l'ovalbumine dans ses urines, obtenu sept mois de congés de suite, à sept reprises différentes et cela dans sept localités différentes. Ce seul exemple suffirait pour montrer que l'on aurait dû, en présence d'albuminurie, surtout lorsqu'il s'agissait d'une réforme ou d'une mise en congé, procéder toutes les fois à la recherche de l'ovalbumine dans l'urine, non seulement par les méthodes chimiques, mais aussi et surtout par la méthode des précipitines.

Genres de simulation. — La simulation d'albuminurie est faite de diverses manières. Le plus généralement, le simulateur délaye au préalable du blanc d'œuf dans de l'eau ou du lait, et, au moment de la miction de ses urines, il en verse au moyen d'une fiole dissimulée dans sa main quelques gouttes dans le verre servant à recueillir les urines ; d'autres fois, le blanc d'œuf à peine battu, est versé, en plus ou moins grande quantité, dans l'urine ; les simulateurs plus habiles, avant de venir uriner (le jour d'une commission de réforme par exemple), s'injectent dans la vessie la solution aqueuse de blanc d'œuf avec une seringue uréthrale. Enfin, d'autres simulateurs étaleraient l'ovalbumine battue sur des carreaux pour la faire sécher rapidement à l'air, puis, au moyen d'un couteau, râcleraient la fine pellicule ainsi formée de blanc d'œuf ; au moment d'uriner, ils laisseraient tomber un peu de cette poudre contenue dans leurs doigts dans l'urine émise ; l'ovalbumine desséchée se dissolverait lentement et permettrait de ne trouver

de la sorte que de faibles quantités d'albumine dans l'urine. Il est bien certain qu'un tel genre de simulation serait bien difficile à reconnaître sans l'emploi du sérum antiovalbumine qui permet, dans ces conditions, d'obtenir le précipité dénonciateur.

OBSERVATION VIII

(publiée par MM. SERR, BIRON et BRETTE (1917))

X..... est hospitalisé à V..., le 22 mai 1917, dans le service de l'un de nous, venant d'un hôpital de notre secteur, où il fut mis en traitement pendant plusieurs semaines pour une albuminurie.

Antécédents. — Rougeole dans l'enfance, paludisme vers l'âge de 16 ans. Mobilisé dès le début de la guerre, X..... a rempli les fonctions de brancardier. Blessé à la cuisse en février 1915, évacué de la zone des armées, il rejoint son dépôt après deux mois de convalescence. Il déclare qu'une analyse faite par hasard révéla dans ses urines l'existence d'une albuminurie notable. S'étant fait hospitaliser à la suite de cette constatation, il est classé dans le service auxiliaire, en avril 1915. Il est mis en réforme n° 2 pour néphrite, au mois de juillet de la même année, après mise en observation de plusieurs semaines dans un hôpital. X....., craignant être déclaré apte au service par la Commission de révision des réformés, contracte, en octobre 1916, un engagement dans les services automobiles. Hospitalisé dans diverses formations pour albuminurie, il est admis à la fin du mois d'avril 1917, à l'hôpital de, se plaignant de douleurs lombaires, de palpitations, de dyspnée d'effort, et attirant tout parti-

culièrement l'attention sur l'existence d'une albuminurie qui augmenterait très notablement sous l'influence de la fatigue. Cet homme est évacué dans le service du médecin de secteur.

Constatations faites à l'hôpital de V... (service du médecin de secteur). — L'état général est excellent. L'examen clinique des différents appareils ne révèle pas de symptômes anormaux ; on constate seulement dans les urines la présence d'une notable quantité d'albumine.

Les urines sont analysées à maintes reprises, durant la première semaine de l'hospitalisation (urines du jour, urines de la nuit, urines demandées à l'improviste et recueillies en notre présence) : la quantité d'albumine dosée par litre varie entre 1 et 2 grammes ; la recherche de l'ovoalbumine est constamment positive.

En présence de ces constatations, X.... est soumis à un isolement rigoureux le 27 et le 28 mai. Il est prévenu que s'il met dans ses urines quelque substance pour simuler une albuminurie, il s'expose à une sévère punition ; il affirme ne se livrer à aucune supercherie et les résultats de l'analyse restent les mêmes. Le 29 mai, X.... est brusquement appelé dans notre bureau ; il restera en surveillance pendant la durée de l'après-midi et urinera toutes les heures en notre présence. A 14 heures, première émission d'urine : l'analyse montre la présence d'albumine en notable quantité, la recherche de l'ovoalbumine est nettement positive. A 15 heures, cet homme prétend ne pouvoir uriner devant nous, il insiste pour sortir ; devant l'ordre formel qui lui est donné d'émettre des urines sur le champ, il avoue qu'il a essayé de nous tromper.

X.... nous déclare alors qu'il est atteint de néphrite depuis deux ans ; mais, sous l'influence du repos, l'albumine de ses urines n'existerait qu'à l'état de traces. Etant en traitement à l'hôpital de A...., il aurait appris d'un

soldat hospitalisé qu'il pourrait faire croire facilement à l'existence d'une albuminurie notable, susceptible de le faire réformer à nouveau en ajoutant une certaine quantité de blanc d'œuf à ses urines recueillies. Un flacon d'ovoalbumine, filtrée au travers d'un linge, lui fut remis sur sa demande par son camarade, en même temps qu'un récipient tubulaire en verre d'une longueur de 2 centimètres, d'une contenance de 0 cm. 7 qui devait recevoir la quantité d'ovoalbumine suffisante pour donner aux urines d'une miction la réaction intense de l'albumine. Ce récipient, toujours rempli de blanc d'œuf, était constamment à la disposition du fraudeur ; il le dissimulait dans sa main au moment des émissions d'urine et vidait adroitement son contenu dans le verre qui servait à les recueillir. Cet homme, mis en observation continue le 29 mai, se trouva dans l'impossibilité de remplir son « tube-poche », après l'avoir vidé ; croyant sa supercherie découverte, il se décida à avouer.

Dans la suite, les urines ont presque quotidiennement présenté des traces d'albumine. Les réactions de l'ovoalbumine se sont montrées négatives à l'exception d'une fois (cet homme avoua qu'il avait ce jour-là renouvelé sa tentative de fraude). L'examen microscopique du culot de centrifugation des urines, pratiqué à plusieurs reprises durant cette période, a constamment montré la présence d'hématies, de leucocytes, de cellules rénales. Le dosage de l'urée dans le sang a révélé, par litre de sérum, une quantité de 0 gr. 40 d'urée.

Examens de laboratoire. — 1° Recherche et dosage de l'albumine vraie. — Le dosage de l'albumine varie de 1 à 2 grammes par litre. L'anneau produit au contact de l'acide azotique arrête pourtant l'attention, car il laisse entrevoir une quantité d'albumine bien supérieure à celle trouvée par le dosage.

L'urine des échantillons soumis à l'analyse présente la coloration ambrée habituelle, son aspect est légèrement louche ; examinée de près, elle laisse apercevoir quelques filaments ; la densité est normale.

2° Recherche de l'ovo-albumine. — Les réactions d'indications (réactif de Maurel et réactif acéto-formol) donnent assez rapidement un précipité à la limite de séparation des liquides ; la réaction est pourtant plus sensible avec le premier. L'identification est faite au moyen du sérum antiovalbumine, qui donne sous forme d'un anneau très net un précipité augmentant assez vite (réaction des précipitines).

3° Examen microscopique du culot de centrifugation des urines. — On constate la présence de quelques filaments suspects (faux cylindroïdes), de très nombreux leucocytes, cellules rénales et hématies.

..... Cette observation nous montre la valeur de la réaction des précipitines, décrite par A.-Ch. HOLLANDE, pour caractériser dans les urines l'albumine de l'œuf.

..... Le cas que nous rapportons présente la particularité suivante : le soldat X... n'était pas un simulateur au sens vrai du mot, puisqu'il présentait une légère albuminurie ; il exagérait seulement l'importance de cette dernière en ajoutant du blanc d'œuf à ses urines, qui avaient, de ce fait, des caractères assez complexes. La présence dans les urines de leucocytes, d'hématies et d'éléments normaux en notable quantité au cours d'une albuminurie impliquait, en

effet, l'existence d'une lésion rénale pour laquelle cet homme fut réformé ; les recherches chimiques permettaient de caractériser nettement d'autre part l'ovoalbumine. *On retiendra donc que la présence d'éléments figurés* dans le culot de centrifugation d'un échantillon d'urine ne constitue pas une preuve certaine de l'absence de l'ovoalbumine. Il serait utile, dans les circonstances actuelles, que les médecins militaires, appelés à donner leur avis sur un cas d'albuminurie, fissent rechercher la réaction de Hollande, même lorsqu'ils ont la certitude d'une lésion rénale et que l'albumine des urines n'existe qu'en faible abondance. » *Loc. cit.*, p. 938-939.

Observations publiées par Barbe (1918)

OBSERVATION IX

Urine du soldat Ch.....

Albumine totale : 0 gr. 60 par litre.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réaction au formol acétique : réaction positive.

Réaction de Hollande (précipitines) : réaction négative.

Réaction de Barbe : réaction négative.

Examen microscopique : très nombreux leucocytes, quelques globules rouges, cylindres granuleux. Cette urine ne contient pas d'ovoalbumine.

OBSERVATION X

Urine du soldat G..... (syphilitique).

Albumine : 0 gr. 90 par litre.

Pseudo-albumine : traces.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction négative.

Réactif de Hollande : réaction négative.

Réactif de Barbe : réaction négative.

Cette urine ne contient pas d'ovalbumine.

OBSERVATION XI

Urine du soldat P..., considérée comme suspecte (4 déc.).

Albumine : 6 gr. 30 par litre.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction faiblement positive.

Réactif de Hollande : réaction négative.

Réactif de Barbe : réaction négative.

L'examen microscopique ayant montré de nombreux spermatozoïdes, des leucocytes et des cylindres, l'urine a été préalablement filtrée sur du talc.

Cette urine ne contient pas d'ovalbumine.

OBSERVATION XII

Urine du soldat P..., examinée le 6 décembre.

Albumine : 0 gr. 60 par litre.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif de Hollande : réaction faiblement positive (1).
Réactif formol acétique : réaction négative.
Réactif de Barbe : réaction négative.
Absence d'ovalbumine.

OBSERVATION XIII

Urine du soldat Br... Première émission à 8 h. 45.

Albumine : 1 gr. 20 par litre.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction positive.

Réactif de Hollande : réaction positive.

Réactif de Barbe : réaction positive.

Deuxième émission à 10 heures :

Albumine : 0 gr. 12 par litre.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction positive.

Réactif de Hollande : réaction positive.

Réactif de Barbe : réaction positive.

Troisième émission à 10 h. 30 :

Albumine : 0 gr. 03 par litre.

La quantité d'urine émise est insuffisante pour effectuer
les autres réactions.

Cette urine contient de l'ovalbumine.

(1) Le léger louche obtenu ici par BARBE avec le sérum antiovalbumine provient sans nul doute de ce que l'urine avait une densité très faible (voir page 56) ; à moins qu'il ne s'agisse d'une simple interposition d'imprimerie, BARBE indiquant toujours dans chacune de ses observations le réactif formol-acétique en second lieu, alors que dans ce seul cas la réaction de HOLLANDE est indiquée avant celle du formol-acétique ; l'auteur n'indique pas la densité de cette urine.

OBSERVATION XIV

Urine du soldat Cr... Première émission à 9 h. du matin :

Réaction acide ; par centrifugation, dépôt hyalien visqueux.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction positive.

Réactif de Hollande : réaction positive.

Réactif de Barbe : réaction positive.

Albumine totale : 3 gr. 60 par litre.

Deuxième émission à 10 heures :

Albumine totale : 1 gr. 20.

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif formol-acétique : réaction positive.

Réactif de Hollande : réaction positive.

Réactif de Barbe : réaction positive.

Cette urine contient de l'ovalbumine.

Observations personnelles

OBSERVATION XV

C., réformé antérieurement pour albuminurie massive, est envoyé au laboratoire par un conseil de réforme aux fins d'analyse de ses urines. L'urine est légèrement trouble ; sa réaction est franchement acide ; la densité est de 1023 à 15°. Laissée déposée un quart d'heure dans un verre conique, l'urine se divise en deux zones, l'une dense située à la partie inférieure du récipient, est formée prin-

ciatement d'une substance sirupeuse contenant des masses globoïdes, transparentes et de dimensions variables ; l'autre moins dense, située à la partie supérieure, est constituée à peu près uniquement par de l'urine trouble. Entre ces deux zones, on observe quelques filaments blanchâtres, flexueux, plus ou moins longs.

La présence anormale dans cette urine de masses globoïdes transparentes attire aussitôt l'attention. Ces masses plus denses que l'urine sont nettement visibles quand on les examine au jour frisant ; lentement déplacées, au moyen d'un agitateur en verre, elles laissent apercevoir de fines stries incolores de dissolution, semblables à celles que l'on obtiendrait en dissolvant lentement de la glycérine versée au fond d'une urine. Jetées dans l'eau bouillante, ces masses se coagulent spontanément par la chaleur ; triturées entre les doigts, elles ont alors l'odeur *sui generis* très nette du blanc d'œuf coagulé.

L'analyse chimique de l'urine dénote l'absence de glucose et de pigments biliaires, mais révèle une forte proportion d'albumine précipitable par les divers réactifs chimiques habituellement employés pour la recherche de l'albumine (acide azotique à froid ; acide acétique au dixième, en présence de chlorure de sodium à l'ébullition, etc.).

L'examen microscopique du culot fourni par la centrifugation de l'urine, indique l'absence de pus, de sang et de tout élément cellulaire de l'appareil uro-génital.

Toutefois, on observe des filaments rappelant des cylindroïdes ou des cylindres hyalins, mais dont aucun ne présente de leucocytes à l'intérieur. L'addition d'eau iodée démontre nettement qu'il ne s'agit pas de cylindres vrais. Ces filaments apparaissent comme formés par une matière albuminoïde coagulée.

La teneur de l'urine en substances albuminoïdes s'élève à 15 grammes par litre.

En présence d'une aussi forte proportion d'albumine et en l'absence d'éléments cytologiques, pus, cylindres, etc., indices d'une pyélo-néphrite, la détermination de la nature chimique de la substance albuminoïde contenue dans cette urine s'imposait.

Réactions d'indication. — Le réactif de Maurel, déposé au moyen d'une pipette à la partie inférieure de l'urine versée dans un verre à pied, fournit un précipité abondant en quelques secondes, au contact de l'urine ; il en est de même avec le mélange acéto-formol.

Réaction d'identification. — En versant dans un petit tube de verre à précipitines un demi-centimètre cube d'urine et en laissant tomber, sur le bord de la paroi interne du tube incliné, le contenu d'une ampoule de sérum antiovalbumine, on obtient à la limite de séparation des deux liquides, un précipité très abondant, comparable à celui que fournit l'acide azotique au contact d'une urine renfermant de l'albumine.

Conclusions. — L'urine de C. renferme de l'ovalbumine, et en quantité telle que cette substance n'avait pu se dissoudre entièrement dans l'urine, d'où la présence des masses globoïdes, hyalines, retrouvées à la partie inférieure de l'urine après sédimentation. Cette albumine d'œuf avait sans doute été additionnée à l'urine par C. au moment de son émission.

OBSERVATION XVI

M. âgé de 30 ans, est envoyé le 27 du mois au laboratoire pour examen de ses urines, par le médecin-chef de son dépôt.

L'urine est émise en notre présence. Nous ne notons rien d'anormal. L'analyse de l'urine révèle l'existence d'albumine à la dose de 0 gr. 20 par litre ; l'émission comprenait environ 80 centimètres cubes ; la densité de l'urine est de 1025.

L'urine était louche. A l'examen microscopique du dépôt, nous notons la présence de leucocytes et de rares gonocôques ; l'absence de cellules épithéliales vésicales montrait qu'il n'y avait aucune réaction catarrhale de la vessie.

Le réactif indicateur de Maurel et l'acéto-formol donnent un précipité au contact de l'urine.

La réaction d'identité est fournie par le sérum anti-ovalbumine qui donne un précipité bien net au bout de quelques secondes, à la limite de séparation de l'urine et du sérum. L'urine contient donc de l'ovalbumine.

Sans que le résultat de l'analyse soit connu du nommé M., celui-ci interrogé sur son alimentation, raconta avoir ingéré deux œufs la veille à son repas, ce qui du reste fut reconnu inexact dans la suite. Aussi, bien qu'il fut démontré d'une façon absolument scientifique que l'ovalbumine rencontrée dans l'urine de M... fut d'origine externe, celui-ci fut mis en observation (1).

Du 27 au 9 du mois suivant, il suivit le « régime maigre », sans œufs ; ses urines analysées à plusieurs reprises, durant cette période ne montrèrent aucune albumine. Du 9 au 15, M..... absorba trois œufs par jour ; l'examen de ses urines ne montra aucune trace d'ovalbumine ni d'albumine pathologique.

Conclusions. — Le nommé M..... présentait dans ses urines, à la date du 27 du mois, de l'ovalbumine ; cette

(1) Cf. Recherche rapide de l'ovalbumine dans l'urine en cas d'albuminurie simulée, par A.-Ch. HOLLANDE, in *Archives de Médecine et de Pharmacie militaires*, 1916.

substance albuminoïde n'a pas été retrouvée dans les examens ultérieurs.

Devant l'évidence, M..... a dans la suite avoué qu'il s'était servi d'une seringue uréthrale pour s'injecter quelques gouttes dans l'urèthre antérieur d'une eau battue avec un blanc d'œuf, en n'employant, après dépôt, que la partie supérieure

OBSERVATION XVII

G....., envoyé au laboratoire par le médecin de son régiment, émet 60 centimètres cubes d'urine. A l'examen macroscopique, on constate que l'urine est légèrement trouble et qu'elle renferme de très légers filaments ; à l'examen microscopique, ces filaments apparaissent formés par une substance albuminoïde coagulée et riches en éléments microbiens ; on remarque quelques petits cristaux ressemblant à des cristaux d'acides gras ; ils sont formés de trois à quatre branches flexueuses formant comme autant de petites étoiles à l'ultramicroscope.

Dans cette urine, on note l'absence de leucocytes et de cellules de l'appareil uro-génital.

L'urine renferme une matière albuminoïde dans des proportions de 0 gr. 80 par litre.

L'identification de cette substance albuminoïde montre, qu'il s'agit d'ovalbumine. (Réaction positive avec le sérum spécifique ; réactifs indicateurs donnant nettement un précipité en quelques secondes.)

A 17 heures du même jour, une seconde émission d'urine montrait encore la présence d'ovalbumine dans l'urine, mais seulement à l'état de traces.

Conclusions. — La présence dans cette urine d'ovalbu-

mine avec des éléments microbiens montre que l'albumine d'œuf additionnée à l'urine avait dû séjourner suffisamment longtemps dans une fiole, avant d'être versée dans l'urine.

En effet, G..... finit par avouer qu'aux deux émissions d'urine, il était parvenu à verser dans son urine un blanc d'œuf contenu dans une fiole qu'il dissimulait.

Nous ajouterons que G... avait été mis en congés successifs d'un mois pour albuminurie et que le total des mois de congés qu'il avait ainsi obtenus s'élevait au nombre de sept.

Il est également à noter que chaque fois l'examen des urines avait été fait dans des laboratoires différents ; G..... était tellement convaincu par son expérience personnelle, qu'il était impossible de différencier l'albumine de l'œuf de l'albumine pathologique que, lorsqu'il se vit surpris, il ne put admettre qu'une chose : c'est qu'il avait été dénoncé par un camarade.

OBSERVATION XVIII

Le 19 du mois, P. M..... s'est présenté au laboratoire pour examen d'urine. L'urine émise est trouble, et renferme quelques filaments visibles macroscopiquement. Elle contient 0 gr. 45 d'albumine par litre. La substance albuminoïde précipite au contact du réactif de Maurel et du mélange acéto-formol. L'urine fournit une réaction positive avec le sérum antioalbumine.

Après centrifugation, les sédiments examinés au microscope montrent quelques globules rouges, de nombreuses petites gouttelettes graisseuses et une grande abondance de filaments rappelant des cylindroïdes ; ces derniers sont chargés de bactéries très mobiles.

Le sujet fut rappelé quelques heures plus tard et prié d'uriner à nouveau devant nous. Il ne put le faire ; étant sorti du laboratoire, il revint quelques minutes après, avec une urine chaude, peu colorée, légèrement opalescente et renfermant de nombreux filaments ; le volume émis était d'environ 60 centimètres cubes.

Cette nouvelle urine renfermait 0 gr. 15 d'albumine par litre ; cette albumine fut reconnue comme étant encore constituée par de l'ovalbumine. (Réaction positive avec le sérum antiovalbumine.)

Le nommé P. M... fut alors fouillé. On trouva en sa possession une fiole renfermant du blanc d'œuf délayé dans du lait. Celle-ci était contenue dans un petit sachet de toile attaché au premier bouton de la ceinture du caleçon au moyen d'une courroie. Le liquide, examiné au microscope, montrait de nombreux globules graisseux et les filaments à l'aspect cylindroïde, riches en bactéries mobiles rencontrées dans l'urine.

Dans les poches de P. M.... on trouva encore un compte-gouttes ayant servi à l'injection uréthrale et dont l'extrémité cassée était ensanglantée ; on trouva également la coquille de l'œuf utilisé à la préparation du mélange de blanc d'œuf et de lait.

En présence de ces constatations, le nommé P. M.... reconnu alors s'être fait, avant chaque émission d'urine, et au moyen du compte-gouttes trouvé sur lui, une injection intra-uréthrale d'ovalbumine délayée dans du lait.

OBSERVATION XIX

S....., réformé par la Commission spéciale de et convoqué six mois après par le Conseil de réforme de ..., est envoyé au laboratoire pour l'examen de ses urines.

Nous indiquerons ici les différentes analyses qui ont été pratiquées sur les urines de S....

a) *Analyse d'urine du 6...* ; 9 heures du matin :

Volume émis, 50 centimètres cubes.

Densité, 1024.

Recherche de l'albumine en milieu chloruré, par l'acide acétique au dixième et la chaleur, précipité abondant.

Réactif Maurel, réaction positive.

Réactif acéto-formol, réaction positive.

Sérum antiovalbumine, réaction positive.

Examen microscopique : présence de cellules épithéliales du bassinet et de cellules uréthrales ; absence de pus et de sang ; présence de quelques cylindres hyalins.

Cette urine de malade renferme de l'ovalbumine.

L) *Analyse d'urine du 6*, 10 heures du matin :

Volume émis, 30 centimètres cubes.

Absence d'albumine (action de la chaleur sur l'urine chlorurée et acidifiée par quelques gouttes d'acide acétique au dixième).

Réactif de Maurel, réaction négative.

Réactif acéto-formol, réaction négative.

Sérum antiovalbumine, réaction négative.

Examen microscopique : présence de cellules épithéliales nombreuses ; absence de pus et de sang.

Comme on le remarquera, la première émission d'urine de S... renfermait de l'ovalbumine, la seconde émission effectuée une heure après la précédente n'en contenait plus et ne renfermait pas d'albumine pathologique.

S... étant atteint de néphrite caractérisée par la présence de cylindres hyalins dans la première émission de ses urines, et ayant dit avoir pris le matin, au petit déjeuner, deux œufs crus, on décidait de le soumettre à diverses

épreuves (ingestion par voie buccale de blancs d'œufs et lavement d'épreuve de Chiray).

Voici le résultat des analyses de S... durant le temps qu'il fut mis en observation :

c) *Analyse des urines, le 7...*, à 7 heures du matin :

Recherche de l'albumine pathologique, négative.

Recherche de l'ovalbumine, négative.

Présence de gros cylindres hyalins ; quelques cylindres épithéliaux ; pas de pus ; présence de quelques hématies et de quelques spermatozoïdes morts.

d) *Analyse du 10...*, à 9 heures du matin :

Absence d'albumine pathologique.

Absence d'ovalbumine.

A 9 h. 3/4, *absorption d'un julep simple contenant trois blancs d'œufs crus.*

e) *Analyse des urines du 10...*, à 11 h. 15 :

Absence d'albumine pathologique et d'ovalbumine.

Examen microscopique, quelques cylindres.

f) *Emission d'urine* à 14 h. 30, absence d'albumine et d'ovalbumine.

g) *Emission d'urine* à 16 h. 30, absence d'albumine et d'ovalbumine.

h) *Emission d'urine* à 18 heures ; présence de traces d'albumine soluble dans un excès d'acide acétique ; réaction des précipitines, négative.

i) *Analyse des urines du 11...* (mélange des urines de la nuit et du matin) :

Absence d'albumine pathologique et d'ovalbumine.

Abondance de cristaux d'urate de soude.

j) *Emission des urines du 11...*, à 9 heures :

Absence d'albumine pathologique et d'ovalbumine.

k) *Le 14...*, il est donné, à 8 heures du matin, un lavement évacuateur, puis à 9 heures le lavement d'épreuve de Chiray formé de six blancs d'œufs crus et XXX gouttes

de laudanum. Ce lavement est introduit dans le gros intestin au moyen de la sonde à entéroclyse, de façon à porter l'albumine d'œuf en présence des parties absorbantes du gros intestin. Le lavement a été conservé.

A 8 heures du matin, avant le lavement évacuateur, les urines de S... continuaient à ne renfermer ni albumine pathologique ni ovalbumine.

l) *Emission des urines du 14...*, à 11 h. 30 :

Présence de petites quantités d'albumine pathologique acido-solubles ; (disparition par un excès d'acide acétique du précipité obtenu par la chaleur en milieu chloruré et légèrement acétique).

Réactif de Maurel : réaction positive.

Réactif acéto-formol : réaction positive.

Sérum antiovalbumine : réaction négative.

Examen microscopique : présence de quelques cellules épithéliales et de cylindres hyalins.

m) *Emission du 14...*, à 20 heures :

Très léger louche en chauffant l'urine additionnée de chlorure ; le louche ne disparaît pas après addition de quelques gouttes d'acide acétique au dixième.

Réactif de Maurel : réaction négative.

Réactif acéto-formol : réaction négative.

Sérum antiovalbumine : réactions négatives.

n) *Les émissions d'urine du 15* ne renferment plus de substances albuminoïdes.

Conclusions. — S... présente des reins lésés, laissant passer une substance albuminoïde lors de l'ingestion d'une forte proportion de blancs d'œuf ; le passage de cette substance albuminoïde a été plus forte après le lavement

d'épreuve de Chiray (1) qui renfermait, il est vrai, une plus grande quantité d'albumine d'œuf que dans le cas de l'épreuve *per os*. En aucun cas, l'albumine rencontrée dans les urines n'était formée d'ovalbumine.

Les épreuves auxquelles S... a été soumis avaient été rendues nécessaires par la constatation d'une néphrite signalée par la présence de cylindres hyalins et parfois épithéliaux dans ses urines.

Il est certain que S... sachant qu'il était atteint de maladie du rein a pu présenter à un moment donné de l'albumine pathologique, mais sachant sans aucun doute qu'il n'en présentait plus au moment de sa seconde convocation devant un Conseil de réforme, S... a cru devoir en introduire directement dans ses urines en l'empruntant au blanc d'œuf ; ajoutons que l'examen des urines de la deuxième émission (b) du 6..., fait une heure après la première émission (a) du même jour permettait déjà, il est vrai, de conclure à la culpabilité de S... Notons que cette observation montre que, même si le rein est lésé, il ne laisse pas passer l'ovalbumine ingérée à la dose de trois à six blancs d'œufs introduits *per os* ou par voie anale.

OBSERVATION XX

Un interné civil allemand, atteint d'albuminurie chronique, doit être évacué en Suisse ; à la veille de son départ, son urine est examinée à L... ; la quantité considérable d'albumine que l'on y rencontre fait soupçonner une simulation ; en présence de médecins suisses, on effectue les réactions de Maurel et de l'acéto-formol ; elles

(1) Cf. Albuminurie provoquée par lavement d'épreuve de blancs d'œuf et réaction des précipitines spécifiques, par A.-Ch. HOLLANDE et LEVRAT, in *Journal Pharmacie et Chimie*, 1^{er} octobre 1917.

sont positives ; le sérum antiovalbumine donne également lieu à la formation d'un précipité abondant. L'éveil étant donné, on examine encore l'urine du domestique de ce dernier qui, lui aussi, était albuminurique ; on trouve de même que l'albuminurie était due à l'addition d'ovalbumine dans l'urine. Après examen, on retrouva sur les porteurs et dans leurs bagages les fioles contenant encore le blanc d'œuf ayant servi à la simulation. Par l'emploi du sérum antiovalbumine, en quelques minutes, ces albuminuriques chroniques furent reconnus comme étant des simulateurs et la supercherie put être décelée à temps (1).

(1) La réaction des précipitines avait été faite par M. le Professeur BARRAL.

CHAPITRE V

Recherche de l'ovalbumine dans l'urine.

Mode opératoire.

A la fin de ce travail, nous mentionnons en quelques lignes la méthode rapide que l'on doit suivre pour la recherche et l'identification de l'ovalbumine dans l'urine :

I. *Indices de probabilité.* — De suite après son émission l'urine est trouble et renferme de fins filaments. Après centrifugation, on voit au microscope de faux cylindroïdes en abondance, souvent *remplis de bactéries* très mobiles (*Bacillus subtilis*) provenant de la fermentation rapide de l'eau albumineuse.

L'urine additionnée de quelques gouttes d'acide acétique au dixième donne, à l'ébullition, un précipité caillboteux, floconneux, dense et tombant rapidement au fond du tube à essai.

II. *Réactions d'indication* (1). — Dans deux verres à pied, on verse 5 centimètres cubes d'urine à examiner. Puis, au moyen d'une pipette, on introduit à la partie inférieure de l'urine : dans le premier verre 5 centimètres cubes du réactif de Maurel (soude caustique à 33 0/0 250 centimètres cubes, sulfate de cuivre à 3 0/0 50 centimètres cubes, acide acétique 700 centimètres cubes) ; dans le second verre 5 centimètres cubes d'un mélange fait à parties égales de la solution de formol du commerce et d'acide acétique pur (Réactif acéto-formol).

Le mélange acéto-formol est moins sensible que le réactif de Maurel. Toutes les fois qu'il sera possible, il sera donc préférable d'employer le réactif de Maurel.

La présence d'ovalbumine se traduit par la formation, en quelques minutes, d'un précipité à la limite de séparation des liquides. Ces deux réactions ne doivent être considérées que comme indicatrices et non comme spécifiques. Elles ne se produisent pas *en général* avec l'albumine et la globuline du sérum de l'homme, mais peuvent avoir lieu avec certaines albumines (albumoses) de l'urine humaine, ou lorsque l'urine renferme du sang et du pus.

(1) Ne pas oublier que tous les réactifs ou procédés chimiques, *si sensibles qu'ils soient*, ne peuvent avoir la prétention de ne précipiter ou de ne donner une réaction spéciale qu'avec l'ovalbumine, et non avec d'autres matières albuminoïdes. De même qu'en médecine légale, seule la réaction des précipitines a de la valeur pour affirmer la présence de sang d'homme, on ne pourra affirmer de façon absolue la présence, dans une urine, de l'ovalbumine, si l'on n'a pas obtenu *le précipité spécifique* d'un sérum antiovalbumine à son contact.

III. a) *Méthode chimique de Peltriset*. — Ramener l'urine à un taux d'albumine ne dépassant pas un gramme d'albumine par litre. Laisser en contact pendant deux heures, 10 centimètres cubes d'urine avec 2 centimètres cubes d'acide acétique. Le mélange filtré au bout de ce temps ne doit plus donner de trouble par le réactif de Tanret.

Lorsque l'urine renferme de l'ovalbumine, on obtient avec l'acide acétique un *précipité filamenteux*. Lorsque l'urine renferme de l'albumine pathologique, elle précipite après filtration par le Tanret.

b) *Procédé modifié de Paul Godfrin*. — Ramener également l'urine à un taux d'albumine ne dépassant pas un gramme d'albumine par litre, additionner 25 centimètres cubes d'urine de 10 gouttes d'acide acétique, porter à 35-37°, 5 minutes ; ajouter 5 grammes de NaCl ; laisser à 35-37° une demi-heure. Filtrer. Si l'urine renferme de l'ovalbumine, le filtrat donne un précipité avec le réactif de Tanret.

Se méfier des résultats fournis, par les méthodes chimiques, avec les urines albumineuses fermentées, ou renfermant du pus et du sang.

IV. *Réaction d'identification*. — Lorsqu'une urine aura fourni une réaction positive avec le réactif de Maurel et le mélange acéto-formol, et même lorsque l'on aura obtenu des résultats positifs par les procédés chimiques de PELTRISOT et de P. GODFRIN, on devra toujours procéder à la réaction spécifique des *précipitines* d'un sérum antiovalbumine avant de conclure à la présence d'ovalbumine dans l'urine.

a) *Recherche de l'ovalbumine directement sur*

l'urine. — Opérer autant que possible sur l'urine fraîche. Dans deux petits tubes de verre, on verse : dans l'un, un demi-centimètre cube de l'urine suspecte, dans l'autre, un égal volume de sa propre urine, ou, de préférence, du liquide physiologique (NaCl à 9 p. 1000). Puis dans chacun de ces tubes, on laisse tomber environ cinq gouttes de sérum anti-ovalbumine, soit le contenu d'une ampoule. (Casser l'ampoule aux deux extrémités, puis accoler un des orifices formés contre la paroi du tube ; par capillarité le liquide s'écoulera de lui-même).

Lorsque l'urine renferme de l'ovalbumine, on voit se produire assez rapidement, à la limite de séparation du liquide et de l'urine (partie inférieure du tube), un précipité qui va en augmentant de plus en plus, pour devenir très net au bout de quelques minutes ; en agitant, le trouble augmente. Le tube témoin ne doit jamais présenter de précipité, lorsque le sérum est bien conservé.

Toutes les fois que l'on aura obtenu un précipité avec l'urine suspecte, on devra, en outre, contrôler l'action précipitante du sérum avec une urine ou du liquide physiologique renfermant environ 1 centimètre cube de blanc d'œuf pour 100 centimètres cubes d'urine.

De rares urines donnent parfois un léger louche au contact du sérum. Ces urines ont une densité très faibles ou sont déchlorurées. Pour éviter la formation de ce louche, il suffit d'additionner de telles urines d'une quantité de NaCl suffisante pour ramener le titre des chlorures au taux normal ; en pratique, on

peut plus simplement ajouter 0 gr. 50 à 1 gramme de NaCl pour 100 centimètres cubes d'urine.

Dans le cas où, malgré cette précaution, le louche continuerait à se manifester, pour plus de sûreté, effectuer la réaction des précipitines sur les matières albuminoïdes extraites de l'urine par le sulfate d'ammoniaque, et redissoutes dans le liquide physiologique, suivant le procédé suivant :

b) *Recherche de l'ovalbumine dans les matières albuminoïdes extraites de l'urine.* — Saturer 25 centimètres cubes d'urine par du sulfate d'ammoniaque, laisser en contact 10 minutes ; filtrer ; verser sur le filtre, bien égoutté, 5 centimètres cubes d'eau distillée pour dissoudre le précipité, puis laver de nouveau le filtre avec 20 centimètres cubes d'eau physiologique renfermant 9 grammes de NaCl pour 1000 centimètres cubes d'eau distillée ; faire repasser sur le filtre, à plusieurs reprises, le filtrat, jusqu'à ce que tout le précipité soit dissout.

Rechercher l'ovalbumine sur une portion de ce filtrat, comme dans l'urine. Faire également un tube témoin en opérant la réaction des précipitines sur le filtrat du liquide physiologique provenant d'un filtre traité parallèlement par une solution saturée de sulfate d'ammoniaque. Le sérum antiovalbumine ne doit donner aucun louche dans ce dernier cas. Comparer les deux réactions.

Le sérum donnera un précipité très net, à la limite de séparation des deux liquides, lorsque le filtrat provenant de l'urine albumineuse renfermera de l'oval-

bumine (1) ; le précipité est toutefois plus lent à se produire que lorsque l'on agit sur l'urine directement.

La réaction des « précipitines » est très sensible et est *spécifique* de l'ovalbumine. Lorsqu'elle est très positive et que les tubes témoins sont normaux, on pourra *affirmer de façon absolue* que le sujet a introduit du blanc d'œuf dans ses urines. La fouille du malade, le lavage de sa vessie ou sa mise en observation en montreront le bien fondé (2).

L'ingestion de blanc d'œuf cru ou cuit par voie buccale ou l'introduction de l'ovalbumine dans le tube digestif par voie rectale ne détermine jamais dans l'urine une réaction positive avec le sérum antiovalbumine.

(1) La réaction des précipitines se produisant sur l'ovalbumine en solution physiologique, après traitement par le sulfate d'ammoniaque, semble indiquer que l'albumine précipitée par le sel neutre, ne doit pas être à l'état de combinaison stable de sulfate double d'albumine et d'ammoniaque et qu'il doit y avoir remise en liberté, dans la solution chlorurée, d'ovalbumine.

(2) Si après les réactions positives de l'ovalbumine, on n'a pas trouvé, sur le sujet, les pièces à conviction (œufs, seringue, fiole renfermant le blanc d'œuf), on pourra mettre le sujet en observation. D'après MINET (cité par M. le Professeur DESGREZ, *Rev. Scient.*, novembre 1918, p. 692), on pourra « suspecter la simulation quand, ayant fait uriner le malade à deux reprises différentes, séparées par un certain temps, une heure par exemple, on constatera un abaissement notable du taux de l'albumine, ou même sa disparition complète lors de la seconde miction. Cette méthode n'a cependant pas une valeur absolue, M. MINET qui a étudié ce genre de stimulation (1916), — et qui ignorait alors nos publications, — « donne, en conclusion, le conseil de recueillir le deuxième verre d'urine non par miction, mais par cathétérisme à demeure et soigneusement surveillé ». Ce cathétérisme, que du reste le malade peut refuser, nous semble inutile, dans l'état actuel de nos moyens de recherches de l'ovalbumine dans l'urine.

Bien que théoriquement la durée du pouvoir précipitant du sérum paraisse illimitée, on devra toujours s'en assurer par un essai direct sur une urine additionnée de blanc d'œuf. Nous utilisons, en général, des ampoules de sérum antiovalbumine de poule, datant de moins de six mois.

CONCLUSIONS

De l'exposé de nos recherches, il résulte que la présence de l'ovalbumine dans l'urine des simulateurs est aujourd'hui facile à mettre en évidence.

Toutes les fois que l'on se trouvera en présence d'une urine ayant un aspect trouble et montrant à l'examen microscopique de faux cylindroïdes le plus souvent chargés de bactéries, on pourra supposer une albuminurie simulée.

Les réactions chimiques (précipité cailleboteux par la chaleur, réactif de Maurel), les méthodes chimiques de Peltriset surtout (acide acétique) et de P. Godfrin (chlorure de sodium acétique) fourniront des indications précieuses et de fortes présomptions quant à la nature (ovalbumine) de la substance albuminoïde introduite dans l'urine suspecte.

Le sérum antiovalbumine de poule, par sa réaction spécifique des précipitines, identifiera, de façon précise, soit dans l'urine même, soit dans le liquide physiologique contenant les substances albuminoïdes

extraites de l'urine par le sulfate d'ammoniaque, l'albumine de l'urine soumise à l'analyse.

Le mode de préparation du sérum antiovalbumine, son titre constant en précipitines, sa conservation relativement longue (six mois à un an) permettent actuellement de considérer notre sérum antiovalbumine comme un réactif très sensible, que l'on peut avoir constamment sous la main et qui, seul, est spécifique de l'ovalbumine. Nous sommes certain que l'emploi de ce sérum pourra rendre, au cours des examens médico-légaux que les médecins peuvent être appelés à pratiquer à la suite des accidents du travail, les mêmes services qu'il a permis d'obtenir durant les hostilités, lors des commissions de réforme.

Nancy, le 15 mai 1919.

Le Président de la Thèse,
P. COURMONT.

Vu :
Le Doyen,
L. HUGOUNENQ.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 20 mai 1919.
Pour le Recteur et par délégation :
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
DEPÉRET.

BIBLIOGRAPHIE

- 1900 J. GUÉRIN. — Sur un caractère distinctif de l'ovalbumine, des sérines et des sérums-globulines. In *Journ. Pharmacie et Chimie*, 1^{er} nov. 1900.
- 1915 AGASSE-LAFONT. — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique. Paris, 1915.
- 1915 A.-Ch. HOLLANDE et J. GATÉ. — Albuminurie pathologique et albuminurie simulée par injection intravésicale d'ovalbumine. In *C. R. Société Biologie*, t. LXXVIII, p. 544 (séance du 9 octobre 1915).
- 1915 A.-Ch. HOLLANDE, M. LEPEYTRE et J. GATÉ. — Simulation d'albuminurie par injection intravésicale d'ovalbumine. In *Journal Pharmacie et Chimie*, 7^e série, t. XII, p. 345 (1^{er} décembre 1915).
- 1916 A.-Ch. HOLLANDE. — Recherche rapide de l'ovalbumine dans l'urine en cas d'albuminurie simulée. In *Archives de Médecine et Pharmacie militaires*, 1916.

- 1916 A.-Ch. HOLLANDE, M. LEPEYTRE et J. GATÉ. — Ovalbumine et albuminurie simulée. In *Annales des Falsifications*, février-mars 1916 (Communication présentée à la Société des Experts-Chimistes de France, à Paris).
- 1916 A.-Ch. HOLLANDE. — Recherche rapide de l'albumine d'œuf dans l'urine. Mode opératoire. In *Union Pharmaceutique*, 15 décembre 1916.
- 1916 P. LANG. — Simulation d'albumine. In *Journal Pharmacie française*, octobre 1916.
- 1916 GAILLARD. — Urine lévulosique et fortement albumineuse ; albumine offrant un des caractères attribués à l'ovalbumine. In *Journal de Pharmacie et Chimie*, p. 321, t. XIV, n° 11, 12 décembre 1916.
- 1916 P. GODFRIN. — Nouveau procédé permettant de reconnaître facilement la présence de l'ovalbumine dans les urines. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XIV, n° 9, p. 257, 1^{er} novembre 1916.
- 1916 P. GODFRIN. — Note relative à la recherche de l'ovalbumine dans les urines. In *Journal de Pharmacie et de Chimie*, t. XIV, n° 11, p. 331, 1^{er} décembre 1916.
- 1916 MINET. — Cité par DESGREZ. In *Revue Scientifique*, dans notes et actualités, 11-18 nov. 1916, n° 22, p. 692.
- 1917 A.-Ch. HOLLANDE. — La recherche de l'ovalbumine dans l'urine et la méthode spécifique des précipi-

- tines. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XV, 1^{er} février, p. 65.
- 1917 V. BORRIEN. — Critiques apportées à la méthode de dosage « volumétrique rapide et clinique de l'albumine », Ed.-Justin MUELLER. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVI, n° 11, 1^{er} décembre, p. 333.
- 1917 Ed.-Justin MUELLER. — Dosage volumétrique rapide et clinique de l'albumine. In *Bulletin Sciences pharmacol.*, t. XXIV, p. 29.
- 1917 Ed.-Justin MUELLER. — Perfectionnement du dosage volumétrique de l'albumine par le ferrocyanure de potassium. Présence dans certaines urines d'albuminoïdes s'hydrolysant facilement. In *Bulletin Sciences pharmac.*, t. XXIV, p. 221.
- 1917 C.-N. PELTRISOT. — Observations sur l'albumine urinaire et les pseudo-albumines. Caractères et recherches de l'ovalbumine. In *Journal Chimie et Pharmacie*, n° 9, t. XVI, p. 257, 1^{er} novembre ; *ibid.*, n° 10, t. XVI, p. 299, 16 novembre.
- 1917 A.-Ch. HOLLANDE et H. LEVRAT. — Albuminurie provoquée par lavement d'épreuve de blancs d'œuf, réaction des précipitines spécifiques sur l'urine. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVI, n° 7, 1^{er} octobre.
- 1917 FRÉDOUX et LAPORTE. — Recherche de l'ovalbumine dans l'urine. In *Bulletin des Travaux de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, I, p. 39, 1917, 55^e année.

- 1917 A.-Ch. HOLLANDE. — Les simulations d'albuminurie par addition de blancs d'œuf à l'urine. In *Bulletin de la Fédération des Syndicats pharmaceutiques de l'Est*, t. XI, n° 12, décembre.
- 1917 SERR, BIRON et BRETTE. — Tentative de fraude au moyen de l'ovalbumine, p. 935, in *Archives Méd. et Pharmacie militaires*, t. LXVIII, n° 6, décembre.
- 1918 C. PAGEL. — Note sur la différenciation de l'ovalbumine et de l'albumine pathologique. In *Bulletin Sciences pharmacologiques*, t. XXV, n°s 3, 4, mars, avril, p. 117.
- 1918 C. BARBE. — Contribution à la recherche de l'ovalbumine dans les urines. In *Bulletin Sciences pharmacologiques*, t. XXV, n°s 3, 4, p. 118, mars, avril.
- 1918 C.-N. PELTRISOT. — Recherche de l'ovalbumine dans l'urine. In *Bulletin Sciences pharmacologiques*, t. XXV, n°s 5, 6, p. 151, mai, juin.
- 1918 A.-Ch. HOLLANDE et J. GATÉ. — Apparition des précipitines dans le sérum des lapins préparés par injection de blanc d'œuf. In *C. R. Société Biologie*, 23 février 1918.
- 1918 A.-Ch. HOLLANDE. — Remarques au sujet de la préparation et du titrage du sérum de lapin antiovalbumine. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVII, 7^e série, p. 5, 1^{er} janvier.
- 1918 Ed.-Justin MUELLER. — Sur la simulation d'albuminurie (Contribution à la recherche de l'ovalbumine).

- In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVIII, n° 7,
1^{er} octobre, p. 204.
- 1918 Henri PECKER. — Remarques sur les urines ictériques.
In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVII, n° 9,
1^{er} mai, p. 292.
- 1918 Paul GODFRIN. — Sur la recherche des traces d'albumine, des pseudo-albumines et de l'ovalbumine dans l'urine ; action du talc sur l'albumine et les pseudo-albumines. In *Journal Pharmacie et Chimie*, t. XVII, n° 9, 1^{er} mai, p. 298 ; *ibid.*, 16 mai, p. 326 ; *ibid.*, 1^{er} juin, p. 361 ; *ibid.*, 16 juin, p. 389.
- 1919 A.-Ch. HOLLANDE. — Substances albuminoïdes précipitées par le sulfate d'ammoniaque et réactions biochimiques. In *C. R. Soc. Biologie*, juin 1919.
- 1919 A.-Ch. HOLLANDE. — Principe d'une nouvelle méthode de classification des albumines de l'urine de l'homme. In *C. R. Soc. Biologie*, juin 1919.
-

